

VIPR-1 基因 12 个多态位点与 鸡早期产蛋性状的相关性

周 敏^{1,2}, 梁菲菲¹, 饶友生^{1,2}, 曾 华¹, 张德祥¹, 张细权^{1*}

(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)

摘 要: 以鸡 VIPR-1 基因作为早期产蛋性状的候选基因, 选取了 12 个多态位点对 644 只宁都三黄鸡进行基因型检测并分析了其与早期产蛋性状的相关性。研究表明: 位于 5' 调控区的位点 A-284G 与开产日龄 ($P < 0.0001$)、总畸形蛋数 ($P < 0.05$) 呈显著相关, 等位基因 G 有利于产蛋量的提高; 位于内含子 6 的位点 C+42 913T 与 300 日龄产蛋数和 300 日龄的总正常蛋数显著相关 ($P < 0.05$), CT 基因型为优势等位基因型; 位于内含子 8 的位点 C+53 327T 与开产日龄呈极显著相关 ($P < 0.01$), 等位基因 C 有利于开产日龄的提前。

关键词: 鸡; VIPR-1 基因; 多态位点; 早期产蛋性状

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2008)09-1147-06

Association of Twelve Polymorphisms of the VIPR-1 Gene with Chicken Early Egg Production Traits

ZHOU Min^{1,2}, LIANG Fei-fei¹, RAO You-sheng^{1,2},
ZENG Hua¹, ZHANG De-xiang¹, ZHANG Xi-quan^{1*}

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

Abstract: In this study, vasoactive intestinal peptide receptor-1 (VIPR-1) gene was used as a candidate gene to analyze the association of 12 polymorphisms sites with early egg production traits in 644 individuals in Ningdu Sanhuang population. Association analyses showed that the A-284G in the 5' regulatory region was significantly associated with the age of first egg ($P < 0.0001$) and total number of oafish egg from 90 to 300 d of age ($P < 0.05$). Allele G is positive for number of egg. The C+43 327T in intron 6 was significantly associated with total number of eggs and total number of qualified eggs from 90 to 300 d of age ($P < 0.05$). CT was predominant genotype. Significant association was also found between C+53 327T in intron 8 and the age of first egg ($P < 0.01$). The allele C was positive for less age of first egg.

Key words: chicken; VIPR-1 gene; polymorphism; early egg production traits

在家禽生产和繁殖性能的改良过程中, 一些重要的育种技术发挥着关键的作用, 如同胞选择、杂种优势的利用、遗传参数与育种值估计、计算机技术、

抗病育种和新兴的分子生物技术。使用数量性状座位 (Quantitative trait loci, QTL) 的标记辅助选择 (Marker assisted selection, MAS) 能够通过影响选

收稿日期: 2007-09-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471241)

作者简介: 周 敏 (1972-), 女, 湖南常德人, 助理研究员, 博士, 主要从事分子遗传与动物育种研究, E-mail: zhoumin904@126.com

* 通讯作者: 张细权, 教授, 博导, Tel: 020-85285703, E-mail: xqzhang@scau.edu.cn

择的时间、强度以及准确度,显著地提高低遗传力性状的遗传进展。产蛋量是鸡的一个极为重要的数量性状,它是开产日龄、产蛋率和死亡率3个子性状的综合效应,属于低遗传力性状、限性性状。开产日龄、产蛋量等性状都是优质鸡育种中需要重点考虑的性状^[1]。近年来,越来越多的候选基因被发现与产蛋性状相关:催乳素(Prolactin, PRL)基因^[2]、血管活性肠肽(Vasoactive intestinal peptide, VIP)基因^[3]等。

VIP在禽类下丘脑神经系统中广泛存在,与家鸡的繁殖性能密切相关。用VIP主动或被动免疫家禽,可抑制PRL的合成与分泌,使就巢行为中断,产蛋量增加^[4-6]。VIP通过位于细胞膜上的受体发挥生理功能,已经证明禽类腺垂体催乳素细胞的细胞膜上有血管活性肠肽I型受体(Vasoactive intestinal peptide receptor-1, VIPR-1)^[7-8],VIPR-1与VIP在腺垂体高亲和力结合是引起PRL重新合成与分泌的信号转导机制的第一步^[9]。鸡的VIPR-1基因定位于2号染色体短臂(2p3.2),全长67 906 bp,包括13个外显子,12个内含子^[7]。虽然近年来国外在转录水平上对家禽VIPR-1基因进行了一些研究,探讨了该基因在不同繁殖周期mRNA的表达量,证明了家禽繁殖性能与之相关,但是否与其本身的DNA序列变异有关,还未见报道。本研究以VIPR-1基因作为早期产蛋性状候选基因,以宁都三黄鸡为研究材料,对VIPR-1基因12个位点与鸡早期产蛋性能的关系进行了分析,探讨VIPR-1基因12个多态位点作为遗传标记的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验鸡群

本试验鸡群选自广东温氏南方家禽育种公司的江西宁都三黄鸡母系母鸡644只,该品系经过了4个世代选育,群体一致性较好,性能较为稳定。饲养方式:按照广东温氏育种公司种鸡饲养标准饲养,77 d前自由采食,77 d后限制饲养,全程笼养。营养标准:育雏育成喂温氏肉鸡料,77 d限制饲养后过渡到喂温氏种鸡料。

1.2 性状分析

数据测定:90日龄母鸡转入产蛋舍个体笼进行每只鸡的开产日龄、产蛋量和畸形蛋的测定,直至300日龄结束。数据资料剔除了中途死亡导致记录不全或数据有明显错误的记录,只分析有全程产蛋

记录的母鸡。

早期产蛋量性状包括:开产日龄、300日龄总产蛋数、300日龄总正常蛋数与300日龄总畸形蛋数4个参数。开产日龄为个体第1次产蛋时的日龄。300 d总产蛋数是指母鸡转入产蛋鸡舍单笼饲养时(90 d)开始,对每只母鸡的产蛋数进行逐日记录,直至300 d。300 d总正常蛋数是指每只鸡90~300 d期间生产的合格蛋数。300 d总畸形蛋数是指每只鸡从90~300 d期间,生产的畸形蛋数包括双黄蛋、软壳蛋、沙壳蛋、过大或过小的蛋等。

1.3 引物设计与合成

选取鸡VIPR-1基因12个多态位点^[10],根据GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)鸡VIPR-1基因序列(GenBank登录号: NW_001471633)及5'侧翼区部分序列进行引物设计,引物序列、扩增长度以及用来检测的位点和检测方法如表1。全部引物由上海生物技术公司合成。

1.4 PCR扩增与基因型判断

PCR反应体系为:2.5 μL 10 × PCR Buffer, 0.5 μL(10 mmol/L)dNTP,上下游引物混合液(上下游引物浓度均为50 pmol/L)1 μL, MgCl₂ (25 mmol/L)1.5 μL, TaqDNA聚合酶1 U,基因组DNA模板1 μL(10~100 ng),加去离子水至25 μL。上述反应体系置于Express Gradient PCR仪上执行如下反应程序:94℃预变性3 min;94℃变性30 s, X℃退火30 s(各引物的退火温度见表1),72℃延伸30~40 s,32个循环;72℃延伸5~7 min;10℃保存。PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测。

对于酶切位点,使用RFLP分型。酶切反应体系为:PCR产物6.5 μL,内切酶1.5 μL,10 × buffer缓冲液1.0 μL。37℃(Taq I与Tai I酶为65℃)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。引物I2-4扩增的PCR产物直接用3%琼脂糖凝胶电泳进行基因型分型。

1.5 统计分析

1.5.1 鸡VIPR-1基因多态位点与鸡早期产蛋性状的相关性分析 由于所观察群体拥有相同的遗传背景,均为产蛋母鸡,且在饲养标准相同条件下单笼饲养,所以标记与早期产蛋性状间的关联分析采用SAS 8.1 GLM程序进行统计分析,构建模型如下: $Y_{ij} = \mu + G_i + H_j + e_{ij}$ 。其中, Y_{ij} 为性状表型值, μ 为

表 1 用于基因型检测的引物序列

Table 1 Details of 12 primer pairs for genotype detection of chicken VIPR-1 gene

引物名称 Name	引物序列 Primer sequence (5'→3')	扩增长度 Length /bp	编号 No.	位置 Location	位点 Sites ²	检测方法 Method	退火温度 AT ¹ (T _m)/°C
503	F:CATGCGGGCTCTTGATCACTG R:GATCAGGATTGGCAAAGCACTAC	315	M1	5' regulatory region	C-1 719T	Csp6 I	64.9
501	F:TGAAAGCCCCAGGATCT R:GAGCAAAAACAAAACCCAAATCA	365	M2	5' regulatory region	A-284G	Tai I	58.2
E2	F:TCGCCTGTCTCAATTAATGTAC R:GAGGGTCAGAGATCCAAGAAGT	285	M3	Exon 2 (Ser18Gly)	A+457G	Hpa II	57.6
I2-1	F:AGAGGAACGCAGCCAGTG R:CCCACCTAACATAAAAGCTCAAC	203	M4	Intron 2	C+598T	BsuR I	58.2
I2-3	F:TGAGCTTTGCAACTGATATTAGAA R:GCTGGTGTATCATCAAGTCTG	298	M5	Intron 2	G+18 805T	Hpa II	58.2
I2-4	F:GCCATCTTGCTCCCCCTAC R:GCAGCAAAGCCCTAAAAGCATT	267	M6	Intron 2	D+19 820I	PCR	58.2
E3	F:CAGAAAGAGCATGCCTAGTTGTA R:TGGAGATGTGGCACTGAGG	562	M7	Exon 3 (Ala66Ala)	A+19 928G	Mbi I	59.0
E6	F:AATGGAAGAGGTATGATGGAC R:CAAAGCAATGTTCCGGTTCT	412	M8	Exon 6 (Arg158Arg)	A+36 264C	Taq I	57.6
I6-1	F:GAGCCATTGCAGTCTTCATAAA R:TTACCATCACAGAGGGGAAAG	349	M9	Intron 6	C+37 454T	Xap I	58.2
I6-2	F:CCCGTTAAACTCAGCAGAC R:CCCAAAGTCCACAAGGTAA	434	M10	Intron 6	C+42 913T	Hha I	58.2
I8	F:CTCCTCAGGCAGACCATCATG R:CTTGACGTATCCTTGGGTAGC	486	M11	Intron 8	C+53 327T	Taq I	58.2
E13-2	F:GGGGTAAGGAAGGGAAGAGC R:TCGGCTAACAAAGGATGGTGAG	363	M12	Exon 13 (3'-UTR)	A+67 608G	Tai I	61.9

AT¹. 退火温度; Sites². 根据鸡 VIPR-1 基因序列(GenBank 登录号: NW_001471633)以 ATG 起始位点为+1 计

AT¹. Referred to annealing temperature. Sites². The first nucleotide of the translation start codon was designated +1 with the next upstream nucleotide being -1 as chicken VIPR-1 gene sequence (GenBank No. NW_001471633)

该性状的总体均值, G_i 为基因型效应值, H_j 为批次效应值, e_{ij} 为随机残差效应。

1.5.2 基因效应分析 加性效应 (Additive effect, a) = $(AA-BB)/2$ 。

显性效应 (Dominance effect, d) = $AB-(AA+BB)/2$ 。

2 结果与分析

2.1 12 个位点与笼养宁都三黄鸡早期产蛋性状的相关性

以鸡 VIPR-1 基因 12 个突变位点作为影响鸡早期产蛋性状的候选遗传标记, 与宁都三黄鸡母系的 4 个早期产蛋性状: 开产日龄、300 日龄总产蛋数、300 日龄总正常蛋数和 300 日龄总畸形蛋数进

行了关联分析, 结果表明位点 A-284G、C+42 913T 和 C+53 327T 这 3 个标记与早期产蛋性状存在不同程度的关联(表 2)。

2.2 位点 A-284G 与早期产蛋性状的相关性

位点 A-284G 不同基因型与早期产蛋性状的相关性见表 3。从表 3 可以看出, 在所观察 4 个性状中, 不同基因型的开产日龄间存在极显著差异 ($P < 0.0001$), 总畸形蛋数存在显著差异 ($P < 0.05$), 其它性状基因型间差异不显著。从该位点对早期产蛋性状的作用方式看, 该位点对开产日龄、300 日龄总产蛋数、300 日龄总正常蛋数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; 对 300 日龄总畸形蛋数主要是以加性方式起作用; 等位基因 G 有利于产蛋量的提高, 等位基因

表 2 VIPR-1 基因多态位点与早期产蛋性状的相关性 (P 值)Table 2 Association of the VIPR-1 gene polymorphisms with the early egg production traits (P value)

多态位点 Polymorphism	开产日龄 AFE	总产蛋数 EN	总正常蛋数 QEN	畸形蛋 OEN
C-1719T	NS	NS	NS	NS
A-284G	<0.000 1	NS	0.051 9	0.048 0
A+457G	NS	NS	NS	NS
C+598T	NS	NS	NS	NS
G+18 805T	NS	NS	NS	NS
D+19 820I	NS	NS	NS	NS
A+19 928G	NS	NS	NS	NS
A+36 264C	NS	NS	NS	NS
C+37 454T	NS	NS	NS	NS
C+42 913T	NS	0.012 9	0.019 2	NS
C+53 327T	0.000 5	NS	NS	NS
A+67 608G	NS	NS	NS	NS

NS. $P > 0.05$; AFE. Age at first egg; EN. Total number of eggs from 90 to 300 d of age; QEN. Total number of qualified eggs from 90 to 300 d of age; OEN. Total number of oafish egg from 90 to 300d of age. The same as below

表 3 位点 A-284G 基因型与笼养宁都三黄鸡早期产蛋性状的相关性

Table 3 Association of A-284G genotypes with early egg production traits in Ningdu Yellow chickens under cage condition

性状 Trait	P 值 P value	AA ¹ (23)	AG ¹ (109)	GG ¹ (512)	$a \pm SE^2$	$d \pm SE^3$
开产日龄 AFE/d	<0.000 1* *	137.94 \pm 2.08 ^A	129.06 \pm 0.97 ^B	137.05 \pm 0.46 ^A	0.743 \pm 0.114	-8.503 \pm 0.014
总产蛋数 EN/枚	0.113 7	110.63 \pm 4.08 ^{ab}	116.81 \pm 1.91 ^a	112.73 \pm 0.91 ^b	-1.415 \pm 0.347	7.571 \pm 0.027
总正常蛋数 QEN/枚	0.051 9	104.24 \pm 4.06 ^a	113.24 \pm 1.90 ^b	109.06 \pm 0.91 ^{ab}	-4.17 \pm 0.339	8.924 \pm 0.026
总畸形蛋数 OEN/枚	0.048 0*	6.39 \pm 1.09 ^a	3.57 \pm 0.51 ^b	3.67 \pm 0.24 ^b	2.755 \pm 0.086	-1.353 \pm 0.006

¹. 最小二乘均值 \pm 标准误; ². 加性效应 \pm 标准误; ³. 显性效应 \pm 标准误; 表中相同小写字母表示差异不显著, 不同小写字母表示差异显著, 大写字母表示差异极显著; ()内数字表示基因型的个体数; * 表示显著相关 ($P < 0.05$), * * 表示极显著相关 ($P < 0.01$)。下同

¹. Least-square Means \pm SE; ². Additive effect \pm SE; ³. Dominance \pm SE. ^{ab} Values within a row with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$) or highly significantly ($P < 0.01$). Number in brackets show the numbers of tested individuals of each genotype. * and * * indicated $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively. The same as below

A 有利于畸形蛋的产生。

2.3 位点 C+42 913T 与早期产蛋性状的相关性

位点 C+42 913T 不同基因型与早期产蛋性状的相关性见表 4。从表 4 可以看出, 位点 C+42 913T 与 300 日龄产蛋数和 300 日龄的总正常蛋数显著相关 ($P < 0.05$), CT 型的个体平均总产蛋数和总正常蛋数比 CC 型个体多 7~8 枚。在该位点 300 日龄总产蛋数与 300 日龄的总正常蛋数呈一定的相关, 即 CT 型的个体平均开产日龄反而比 CC 型个体要推迟 0.5 d, CT 型个体的平均总畸形蛋数比 CC 型个体多 0.5 枚。由于在 644 个个体中没有检测到 TT 型个体, 无法进行遗传效应的估计。但

可推测该位点对 300 日龄的总产蛋数、300 日龄的总正常蛋数主要是以显性方式起作用。

2.4 位点 C+53 327T 与早期产蛋性状的相关性

位点 C+53 327T 不同基因型与早期产蛋性状的相关性见表 5。位点 C+53 327T 与开产日龄呈极显著相关 ($P = 0.000 5 < 0.01$), 与总产蛋数、总正常蛋数和总畸形蛋数不相关 ($P > 0.05$)。各基因型开产日龄表现为: TT > CT > CC; 多重比较分析发现, 基因型 CC 比基因型 TT 个体平均开产日龄提前 3.75 d, 差异极显著 ($P < 0.01$), 基因型 CC 比基因型 CT 个体平均开产日龄提前 3.02 d, 差异极显著 ($P < 0.01$), 基因型 CT 比基因型 TT 个体平均

表 4 位点 C+42 913T 基因型与笼养宁都三黄鸡早期产蛋性状的相关性
Table 4 Association of C+42 913T genotypes with early egg production traits in Ningdu Yellow chickens under cage condition

性状 Trait	P 值 P value	CC(603)	CT(41)
开产日龄 AFE /d	0.768 3	135.74±0.45 ^a	136.24±1.63 ^a
总产蛋数 EN /枚	0.012 9 [*]	112.82±0.85 ^A	120.67±3.06 ^B
总正常蛋数 QEN /枚	0.019 2 [*]	109.10±0.85 ^A	116.46±3.05 ^B
总畸形蛋数 OEN /枚	0.566 9	3.72±0.23 ^a	4.21±0.82 ^a

开产日龄提前开产 0.73 d, 差异不显著; 该位点的加性效应值为 -4.154, 显性效应值为 1.356, 该位点

主要是加性效应。加性效应为负即 T 等位基因有利于增加开产日龄, 显性效应为正表明杂合子为优。

表 5 位点 C+53 327T 基因型与笼养宁都三黄鸡早期产蛋性状的相关性
Table 5 Association of C+53 327T genotypes on early egg production traits in Ningdu Yellow chickens under cage condition

性状 Trait	P 值 P value	CC ¹ (268)	CT ¹ (273)	TT ¹ (103)	a±SE ²	d±SE ³
开产日龄 AFE/d	0.000 5 ^{**}	133.97±0.64 ^A	136.99±0.65 ^B	137.72±1.03 ^B	-4.158±0.092	1.356±0.004
总产蛋数 EN/枚	0.911 2	113.39±1.21 ^a	113.53±1.25 ^a	112.57±1.97 ^a	1.154±0.24	0.317±0.012
总正常蛋数 QEN/枚	0.999 8	109.57±1.21 ^a	109.56±1.24 ^a	109.60±1.96 ^a	0.257±0.234	-0.234±0.011
总畸形蛋数 OEN/枚	0.243 4	3.83±0.32 ^a	3.97±0.33 ^a	2.97±0.53 ^a	0.898±0.041	0.551±0.002

3 讨 论

鸡的产蛋性状是受多种因素控制的复杂性状, 这些因素间存在高度相关, 或者互相促进, 或者彼此制约。本研究中的宁都三黄鸡群, 开产日龄平均为 136 日龄, 相对于其它性状来说, 变异系数较小 (7.86%)。300 日龄总产蛋数平均为 113.92 枚, 变异系数较大 (23.91%)。相关分析表明, 开产日龄与 300 日龄总产蛋数的表型相关系数为 -0.24 ($P < 0.05$), 表明鸡开产越早, 产蛋数越多。

基因的编码区突变以及内含子与外显子交界处的突变可能导致基因的结构、功能发生变化, 而转录与调控区的突变有可能导致基因的转录、表达水平的改变^[11]。哺乳动物 VIPR-1 基因的 5' 侧翼区的调控序列与该基因组织特异性转录关系十分密切: 转录起始位点位于 (-114~-79 bp) 间, 核心启动子区域在 (-126~+1 bp) 间, 在 (-126~-488 bp) 间包含有潜在的增强子序列, 转录抑制区在 (-488~-1 025 bp), 启动子区域包含多个与 VIPR-1 基因基础转录有关的反应元件, 并与增强子区域、转录抑制区域发生强烈的互动, 共同调节 VIPR-1 基因的表达^[12-15]。本研究结果表明 A-284G 对早期产蛋性状 4 个参数存在不同程度的影响, 等位基因

G 有利于产蛋量的提高, 等位基因 A 有利于畸形蛋的产生。通过对鸡 VIPR-1 基因 5' 侧翼区转录因子结合位点的预测发现, 当 -284 bp 的位置上的碱基由 G 变成了 A, 失去了 1 个 CRE-BP1/c-Jun 与 1 个 CREB 的可能作用位点, 可能导致鸡 VIPR-1 基因表达的差异。该位点是否是通过与这些转录因子的结合来达到调控目的基因表达从而达到影响表型的目的, 需要进一步的试验来证明。

近年来人们对内含子的功能提出许多新的见解, 其中最重要的一个方面是内含子在基因表达调控中起着重要作用^[16]。目前许多基因的内含子中均发现了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, 它们同某些蛋白质结合影响其转录的起始和延伸^[17-19]。本文中与早期产蛋性状有关的位点 C+42 913T 与 C+53 327T 都是位于内含子上的突变位点, 特别是内含子 8 中的位点 C+53 327T 仅与外显子 8 相隔 27 bp, 笔者推测这个位点的突变可能影响了某些调控元件的功能, 从而影响了鸡 VIPR-1 基因表达及鸡的早期产蛋性状。需要强调的是, 这 3 个 SNP 与早期产蛋性状的相关性结果是在特定的群体中研究得到的, 有必要在其它较大规模的商业群体中进一步验证。

本研究通过对 VIPR-1 基因 12 个多态位点与

优质肉鸡宁都三黄鸡群早期产蛋性状的相关分析,发现有 3 个多态位点不同基因型对母鸡的早期产蛋性状存在显著影响,为利用分子遗传标记辅助选择来提高母鸡产蛋性能提供了新的依据。

参考文献:

- [1] SU H, SILVERSIDES F G, VILLENEUVE P. Effects of sex-linked imperfect albinism (sal-s) in the chicken on the relationships of plasma concentrations of progesterone and 17 beta-estradiol with egg production [J]. *Poult Sci*, 1996, 75:13-19.
- [2] 张汤杰,李慧芳,陈宽维,等. 高邮鸭 *PRL* 基因内含子 1 的 SNP 检测及其与产蛋性状的相关分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2007, 38(27):1 377-1 382.
- [3] YOUNGREN O M, SILSBY J L, ROZENBOIM I, et al. Active immunization with vasoactive intestinal peptide prevents the secretion of prolactin induced by electrical stimulation of the turkey hypothalamus [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1994, 95(3):330-336.
- [4] EL HALAWANI M E, SILSBY J L, ROZENBOIM I, et al. Increased egg production by active immunization against vasoactive intestinal peptide in the turkey (*Meleagris gallopavo*) [J]. *Biol Reprod*, 1995, 52(1):179-183.
- [5] EL HALAWANI M E, PITTS G R, SUN S, et al. Active immunization against vasoactive intestinal peptide prevents photo-Induced prolactin secretion in turkeys [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1996, 104(1):76-83.
- [6] EL HALAWANI M E, WHITING S E, SILSBY J L, et al. Active immunization with vasoactive intestinal peptide in turkey hens [J]. *Poult Sci*, 2000, 79(3):349-354.
- [7] KANSAKU N, SHIMADA K, OHKUBO T, et al. Molecular cloning of chicken vasoactive intestinal polypeptide receptor complementary DNA, tissue distribution and chromosomal localization [J]. *Biol Reprod*, 2001, 64(5):1 575-1 581.
- [8] YOU S, HSU C C, KIM H, et al. Molecular cloning and expression analysis of the turkey vasoactive intestinal peptide receptor [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2001, 124(1):53-65.
- [9] ROZENBOIM I, EL HALAWANI M E. Characterization of vasoactive intestinal peptide pituitary membrane receptors in turkey hens during different stages of reproduction [J]. *Biol Reprod*, 1993, 48(5):1 129-1 134.
- [10] 周 敏. *VIPR-1* 基因变异及其对家鸡就巢行为的遗传效应[D]. 广州:华南农业大学, 2007.
- [11] XU H, GREGORY S G, HAUSER E R, et al. SNPselector: a web tool for selecting SNPs for genetic association studies [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(22):4 181-4 186.
- [12] PEI L, MELMED S. Characterization of the rat vasoactive intestinal polypeptide receptor gene 5' region [J]. *Biochem J*, 1995, 308(Pt 3):719-723.
- [13] SREEDHARAN S P, HUANG J X, CHEUNG M C, et al. Structure, expression, and chromosomal localization of the type I human vasoactive intestinal peptide gene [J]. *PNAS*, 1995, 92(7):2 939-2 943.
- [14] HASHIMOTO H, NISHINO A, SHINTANI N, et al. Genomic organization and chromosomal location of the mouse vasoactive intestinal polypeptide 1 (VPAC1) receptor [J]. *Genomics*, 1999, 58(1):90-93.
- [15] KARACAY B, O'DORISIO M S, SUMMERS M, et al. VIP receptor 1 (VPAC1) promoter targets the expression of a reporter gene to cerebellum and adrenal medulla in transgenic mice [J]. *Regul Pept*, 2003, 116(1-3):1-12.
- [16] 丁红梅,邵根宝,徐银学. 内含子与基因表达调控[J]. *畜牧与兽医*, 2006, 38(3):50-53.
- [17] HAIGH C L, WRIGHT J A, MROWN D R. Regulation of prion protein expression by noncoding regions of the *Prnp* gene [J]. *J Mol Biol*, 2007, 368(4):915-927.
- [18] 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.
- [19] WANG W C, SHASHIKANT C S. Evidence for positive and negative regulation of the mouse *Cdx2* gene [J]. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*, 2007, 308(3):308-321.