

# 湖羊 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因组织表达谱及其在卵巢组织中 mRNA 表达水平与排卵数间的相关性研究

徐业芬<sup>1,2</sup>, 李齐发<sup>1\*</sup>, 李二林<sup>1</sup>, 涂飞<sup>1</sup>, 胡冬利<sup>1</sup>, 陈玲<sup>3</sup>, 谢庄<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学动物科技学院, 南京 210095; 2. 西藏大学农牧学院, 林芝 860000;  
3. 江苏省苏州种羊场, 苏州 215000)

**摘要:** 为了探索湖羊多胎分子机理, 筛选影响湖羊多胎性状的特有候选基因, 本试验选取 16 只经产湖羊母羊, 分为单羔组和多羔组, 同期发情后屠宰观察卵巢排卵数, 并利用 RT-PCR 和荧光定量 PCR 技术对湖羊 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因的组织表达特征以及在单羔组和多羔组卵巢组织中的表达水平进行分析。结果表明: *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因除了在湖羊卵巢组织中有表达外, 在下丘脑、垂体、子宫、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉、输卵管等组织内也均有表达; 单羔组和多羔组间卵巢组织 *BMPRIA* 基因 mRNA 表达水平差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 且与排卵数间没有显著相关性 ( $P > 0.05$ ); 但是, 多羔组卵巢组织 *BMPRII* 基因 mRNA 表达水平显著高于单羔组 ( $P < 0.05$ ), 且与排卵数呈显著正相关 ( $r = 0.722, P < 0.05$ )。结果说明 *BMPRII* 基因可能对湖羊排卵数起作用, 是影响湖羊排卵数的候选基因。

**关键词:** 湖羊; *BMPRIA* 基因; *BMPRII* 基因; 排卵数

中图分类号: S826; Q344.13 文献标识码: A 文章编号: 0366-6964(2009)10-1447-07

## The Tissue Distributions and the Expressions in the Ovary of *BMPRIA* and *BMPRII* mRNA and Their Associations with Ovulation Number in Hu Sheep

XU Ye-fen<sup>1,2</sup>, LI Qi-fa<sup>1\*</sup>, LI Er-lin<sup>1</sup>, TU Fei<sup>1</sup>, HU Dong-li<sup>1</sup>, CHEN Ling<sup>3</sup>, XIE Zhuang<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Agriculture and Animal Husbandry College, Tibet University, Linzhi 860000, China; 3. Suzhou Sheep Breeding Farm of Jiangsu Province, Suzhou 215000, China)

**Abstract:** In order to understand the molecular mechanism and the candidate genes for high fecundity in Hu sheep, sixteen adult Hu ewes, grouped into single lambing (S) and multiple lambing (M) groups, were treated for synchronized estrous and sacrificed for tissue sampling and recording ovulation number. The tissue distributions and expression levels in the ovary for *BMPRIA* and *BMPRII* mRNA in Hu sheep were investigated by RT-PCR and real-time PCR. The results showed that both the *BMPRIA* and *BMPRII* mRNA expressed in the ovary and other tissues, including hypothalamus, pituitary, uterus, heart, liver, spleen, lung, kidney, muscle and oviduct. There was no significant difference in the *BMPRIA* mRNA abundance in the ovary between S and M groups ( $P > 0.05$ ) and no correlation with ovulation number ( $P > 0.05$ ), but the *BMPRII* mRNA abundance in the ovary was higher in M group than that in S group ( $P < 0.05$ ) and positively correlated with ovulation number ( $r = 0.722, P < 0.05$ ). The results suggested that *BMPRII* might play an important role on ovulation number and might be a candidate gene for high fecundity in Hu sheep.

**Key words:** Hu sheep; *BMPRIA* gene; *BMPRII* gene; ovulation number

收稿日期: 2008-09-07

基金项目: 国家自然科学基金(30671503); 江苏省自然科学基金(BK2007156)

作者简介: 徐业芬(1975-), 女, 湖北随州人, 讲师, 博士生, 主要从事动物分子数量遗传学研究, E-mail: xzlzxyf@163.com

\* 通讯作者: 李齐发, E-mail: liqifa@njau.edu.cn; 谢庄, E-mail: zxie@njau.edu.cn

湖羊是世界著名的多胎绵羊品种之一,谢庄等<sup>[1]</sup>根据产羔胎次差异的分析,发现湖羊公羊间存在繁殖性能方面的差异,通过对湖羊高繁殖群体进行选育,使产羔率有了明显提高,认为湖羊拥有控制多胎性状的主效基因。国外对绵羊高繁殖力进行了分子水平的分析,将 *BMPRI3* (即 *FecB* 基因)、*BMP15* (即 *FecX* 基因) 和 *GDF9* 基因进行了定位,并证明它们是影响某些绵羊品种或品系多胎性能的主效基因<sup>[2]</sup>。但是,管峰等<sup>[3]</sup>发现湖羊均是 *BMPRI3* 基因突变纯合体 (BB),认为 *BMPRI3* 基因并非是影响湖羊多胎性能的主效基因;另外,已在绵羊中检测到 *BMP15* 基因 5 个点突变 (*FecXI*、*FecXH*、*FecXG*、*FecXB*、*FecXL*),其中任何一个突变杂合个体都具有较高的排卵数,但在湖羊上都没有检测到这些点突变或发生率极低<sup>[4-8]</sup>;此外,管峰等<sup>[8]</sup>利用 PCR-RFLP 方法检测到湖羊群体中存在 *GDF9* 基因的 G8(C→T) 突变,但发生率较低。可见不同绵羊品种间控制多胎性状的主效基因不尽相同。

骨形态发生蛋白 (Bone morphogenetic proteins, BMPs) 是转化生长因子  $\beta$  (Transforming growth factor  $\beta$ , TGF $\beta$ ) 超家族中最大的亚家族,为多功能蛋白。研究表明, BMP 是卵巢中一个功能性的旁分泌调节体系,调节卵巢中卵泡的发生及排卵<sup>[9]</sup>。BMPs 蛋白发挥作用离不开其受体 (Bone morphogenetic protein receptor, BMPR), BMPR 为膜蛋白受体,具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性,包括 2 种 I 型受体 (*BMPRIA* 和 *BMPRI3*) 和 1 种 II 型受体 (*BMPRII*)。一旦 *BMPRII* 型受体复合物形成后即可激活 I 型受体, I 型受体再作用于细胞内信号转导分子 Smad 1 或 Smad 5,使其活化后可再结合 Smad 4 形成复合物进入细胞核,作用于特定基因的启动子,引发各种生物学效应<sup>[10]</sup>。为了揭示湖羊高繁多胎分子机理,筛选影响湖羊多胎性状的特有候选基因,本研究采用 RT-PCR 和荧光定量 PCR 技术对湖羊 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因的组织表达特点以及在单羔组和多羔组卵巢组织中的表达水平进行分析,从分子水平上探讨 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因 mRNA 的表达水平与湖羊多胎的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验动物

由江苏省湖羊种羊保种场选择健康无病、体况

良好、经产湖羊母羊 16 只 (其中经产 3、4 羔母羊 8 只作为产多羔组,经产单羔母羊 8 只作为对照组),样本湖羊与其它湖羊饲养在同一环境中,来源于同一始祖群。采样前用氯前列醇钠 (PG-Cl) 按照每只羊 0.1 mg 进行肌肉注射,2 d 后试验羊只全部发情,待 18 d 后第 2 次自然发情时,进行采样。

采用阴道检查法和公羊 (输精管结扎) 试情法进行发情鉴定,发情后 24~36 h 内将试验羊全部屠宰,取出卵巢,观察排卵点 (或红体数),分别记录左右两侧卵巢排卵数,以左右卵巢排卵数之和为该个体排卵数;同时采取下丘脑、垂体、卵巢、子宫、心、肝、脾、肺、肾、肌肉、输卵管等组织,立即用液氮冻藏, -70 °C 保存,用于提取总 RNA。

### 1.2 试剂和仪器

Trizol reagent 为美国 Invitrogen 公司产品; MMLV 反转录酶为美国 Promega 公司产品; *Taq* DNA 聚合酶、SYBR Premix EX *Taq*<sup>TM</sup> HS DNA 聚合酶和 pMD18-T Simple Vector 为大连 TaKaRa 公司产品。Opticon 荧光实时定量 PCR 仪为美国 MJ 公司产品;低温高速离心机 (Centrifuge 5810R) 为德国 Eppendorf 公司产品;梯度 PCR 仪、凝胶成像系统为美国 Bio-rad 公司产品。

### 1.3 组织总 RNA 提取和反转录

用 Trizol 法提取各组织总 RNA,具体操作参照试剂盒说明书进行,用紫外分光光度计测定总 RNA 浓度和纯度 ( $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}} = 1.8 \sim 2.0$ )。用随机引物对总 RNA 进行反转录,反应体系为 25  $\mu\text{L}$ : 2  $\mu\text{g}$  总 RNA, 1  $\mu\text{g}$  随机引物, 0.4 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs, 20 U Rnasin, 200 U M-MLV 反转录酶, 5  $\mu\text{L}$  5 $\times$  RT Buffer。反应程序:先加 RNA 原液、dNTPs 和随机引物,70 °C 变性 5 min 后立即放冰上冷却,再加其余试剂,混匀后 37 °C 反应 60 min, 95 °C 变性 5 min。RT 产物保存于 -20 °C 备用。

### 1.4 RT-PCR 反应与克隆测序

由于 GenBank 数据库中检索不到绵羊 *BMPRIA* 与 *BMPRII* 序列,故参考牛 *BMPRIA* 与 *BMPRII* 基因 mRNA 序列信息,用 Primer premier 5.0 软件设计引物 (表 1),由上海英骏生物技术有限公司合成,以持家基因  *$\beta$ actin* 作为内参。

反应体系为 10  $\mu\text{L}$ : 0.5  $\mu\text{L}$  RT 产物, 1 U *Taq* DNA 聚合酶, 1  $\mu\text{L}$  10 $\times$  PCR Buffer (100 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> Tris-HCl (pH 8.3), 500 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> KCl), 0.25 mmol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> dNTPs,

1.25 mmol · L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.5 μmol · L<sup>-1</sup> 上游和下游引物。反应程序为:94 °C 预变性 3 min;94 °C 30 s, 退火 30 s,72 °C 30 s, 33~36 个循环;72 °C 延伸 5 min。PCR 产物用 8% 聚丙烯酰胺凝胶 (Acr : Bis = 29 : 1) 电泳分离, 银染后用凝胶成像系统照相。

PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳分离, 紫外灯下割取目的片段, 用 V-gene DNA 凝胶回收试剂盒回收纯化, 纯化的 PCR 产物送上海英骏生物技术有限公司测序。

表 1 *BMPRIA*、*BMPRII* 和  $\beta$ -actin 引物参数

Table 1 Parameters of oligo-nucleotide primer pairs for the *BMPRIA*, *BMPRII* and  $\beta$ -actin

目的基因 Target gene	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物/bp Product size	退火温度/°C Annealing temperature	参考序列 Reference sequence
<i>BMPRIA</i>	F:CGTCGTTGTATCACAGGAG R:CTGCTCGTAGACATTCATCAC	163	51	NM001076800
<i>BMPRII</i>	F:GTGAGCCCAACAGTCAATCC R:TGCTTGCTGCCGTTTCAT	243	64	XM617952
$\beta$ -actin	F:AGCCTTCCTTCCTGGGCATGGA R:GGACAGCACCGTGTGGCGTAGA	117	68	U39357

### 1.5 实时荧光定量 PCR

反应体系为 20 μL:1 μL RT 产物, 1 U EX Taq HS DNA 聚合酶, 4 μL 5 × PCR Buffer, 0.3 mmol · L<sup>-1</sup> dNTPs, 3.75 mmol · L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 0.5 mmol · L<sup>-1</sup> 目的基因上游和下游引物, 1 μL 20 × SYBR green I。反应程序为:95 °C 预变性 1 min; 95 °C 10 s, 退火 10 s, 72 °C 15 s, 读板, 45~48 个循环; 72 °C 延伸 5 min; 进行熔解曲线分析: 65~94 °C, 每隔 0.2 °C 读板一次(温度恒定 1 s 后才读板)。BMPRIA 和 BMPRII 基因表达量以  $\beta$ -actin 为内参, 使用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法获得结果, 其中  $\Delta\Delta C_t = (C_{t\text{目的基因}} - C_{t\text{内参基因}})$ 。每个个体卵巢组织 BMPRII 和 BMPRIA mRNA 表达量值以左右卵巢样品分别测定 3 次后的平均值表示。

### 1.6 数据分析

试验结果表示为  $\bar{x} \pm SD$ , 用 SPSS13 For Windows 软件进行分析。产多羔组和产单羔组湖羊体质量、已产胎次、每胎平均产活羔数、卵巢质量、排卵数、BMPRIA 和 BMPRII mRNA 在卵巢组织中表达量的差异用独立样本 *t* 检验进行分析; 用简单相关和直线回归对湖羊卵巢组织内 BMPRIA、BMPRII 基因 mRNA 表达量间及与排卵数间分别进行相关和回归分析。

## 2 结果

### 2.1 单羔组和多羔组湖羊排卵数的比较

单羔组和多羔组湖羊的体质量、每胎平均产活

羔数、卵巢质量和排卵数见表 2。单羔组和多羔组间湖羊体质量没有显著差异 ( $P > 0.05$ ), 多羔组每胎平均产活羔数和排卵数极显著高于单羔组 ( $P < 0.01$ ), 多羔组卵巢质量显著高于单羔组 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 *BMPRIA*、*BMPRII* 和 $\beta$ -actin 基因的 RT-PCR 扩增

以湖羊卵巢组织总 RNA 为模板, 用所设计的 BMPRIA、BMPRII 和  $\beta$ -actin 基因引物分别进行 RT-PCR 扩增, 结果见图 1。通过测序发现, 产物与预期片段大小一致。用 DNAMAN5.2.2 对测序结果与引物设计源序列进行同源性比较, 结果发现: 湖羊 BMPRIA 和 BMPRII cDNA 扩增片段与引物设计源序列同源性分别为 98% 和 98%;  $\beta$ -actin 基因扩增片段的序列与引物设计源序列的同源性为 100%。证明 RT-PCR 扩增产物分别为湖羊 BMPRIA、BMPRII 和  $\beta$ -actin 基因 cDNA 片段。

### 2.3 湖羊 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因的组织表达谱分析

利用 RT-PCR 对产多羔组湖羊下丘脑、垂体、子宫、卵巢、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉、输卵管等 11 种组织 BMPRIA 和 BMPRII 基因的表达进行检测, 结果见图 2。BMPRIA 和 BMPRII 基因除了在成年湖羊母羊发情后 24~36 h 内的卵巢组织中都有表达外, 在下丘脑、垂体、子宫、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏和输卵管组织中也均有表达, 说明湖羊 BMPRIA 和 BMPRII 基因是广谱表达基因。

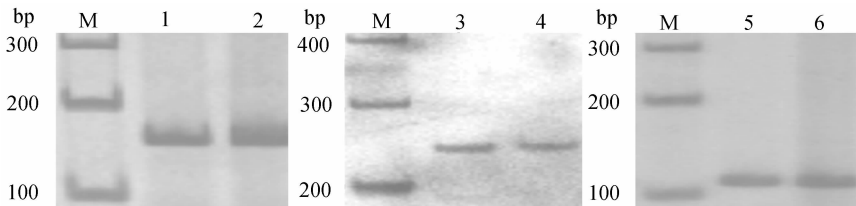
表 2 单羔组、多羔组湖羊体质量、每胎平均产活羔数、卵巢质量和排卵数的比较

Table 2 Comparison of body weight, average number of lambs born alive, ovarian weight and ovulation number between single lambing and multiple lambing groups

组别 Group	样本量 Animal number	体质量/kg Body weight	已产胎次/次 Birth order	每胎平均产活羔数/只 Average number of lambs born alive	卵巢质量/g Ovarian weight	排卵数 /个 Ovulation number
单羔组 Single lambing group(S)	8	37.8±10.86 <sup>a</sup>	2.33±0.58 <sup>a</sup>	1.00±0.00 <sup>B</sup>	1.33±0.27 <sup>b</sup>	2.00±0.00 <sup>B</sup>
多羔组 Multiple lambing group(M)	8	45.7±10.89 <sup>a</sup>	2.60±0.55 <sup>a</sup>	2.90±0.64 <sup>A</sup>	1.95±0.13 <sup>a</sup>	3.80±0.84 <sup>A</sup>

同列数据标拥有不同小写和大写字母分别表示差异显著( $P<0.05$ )和差异极显著( $P<0.01$ )

The values with different small and capital superscripts in the same line indicate the difference ( $P<0.05$ ) and extreme difference ( $P<0.01$ )

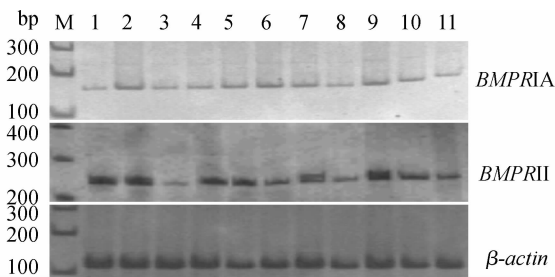


M. DNA 相对分子质量标准(100 bp ladder);1,2. 湖羊 *BMPRIA* 基因扩增片段;3,4. 湖羊 *BMPRII* 基因扩增片段;5,6. 湖羊  $\beta$ -actin 基因扩增片段

M. DNA marker(100 bp ladder);1, 2. Fragments amplified of *BMPRIA* in Hu sheep; 3, 4. Fragments amplified of *BMPRII* in Hu sheep; 5,6. Fragments amplified of  $\beta$ -actin in Hu sheep

图 1 湖羊 *BMPRIA*、*BMPRII* 和  $\beta$ -actin 基因的 RT-PCR 电泳图

Fig. 1 RT-PCR results of *BMPRIA*, *BMPRII* and  $\beta$ -actin gene in Hu sheep



M. 100 bp DNA ladder; 1~11. 依次为分别为下丘脑、垂体、子宫、卵巢、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉、输卵管

M. 100 bp DNA ladder; 1-11. Hypothalamus, pituitary, uterus, ovary, heart, liver, spleen, lung, kidney, muscle and oviduct

图 2 湖羊 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因的组织表达谱

Fig. 2 The expression profile of *BMPRIA* and *BMPRII* in Hu sheep

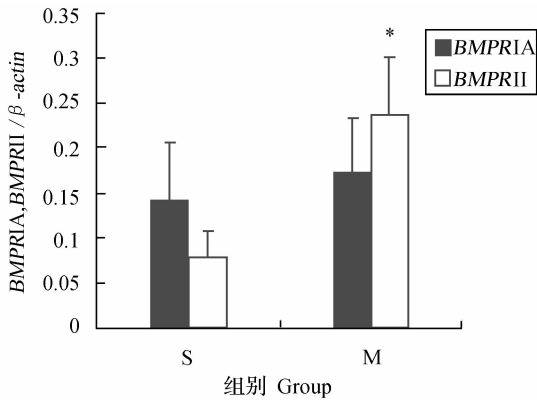
### 2.4 湖羊卵巢组织 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因 mRNA 表达水平分析

对经产单羔和多羔湖羊卵巢组织 *BMPRIA* 和

*BMPRII* 基因 mRNA 表达水平进行了荧光定量检测,结果见图 4,单羔组和多羔组间卵巢组织 *BMPRIA* 基因 mRNA 表达水平差异不显著 ( $P>0.05$ );多羔组卵巢组织 *BMPRII* 基因 mRNA 表达量显著高于单羔组 ( $P<0.05$ )。

### 2.5 湖羊卵巢组织 *BMPRIA*、*BMPRII* 基因 mRNA 表达量与排卵数间的相关性分析

用 Bivariate Correlations 对湖羊卵巢组织 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因 mRNA 表达量间及与排卵数间分别进行简单线性相关分析,结果见表 3,从表 3 中可以看出卵巢中 *BMPRII* 基因 mRNA 表达量与排卵数呈显著正相关 ( $P<0.05$ ),而 *BMPRIA* mRNA 表达量与排卵数没有显著相关 ( $P>0.05$ ),*BMPRIA* 基因 mRNA 表达量与 *BMPRII* 基因 mRNA 表达量也没有显著相关性 ( $P>0.05$ )。在相关系数的基础上,建立了湖羊卵巢 *BMPRII* 基因 mRNA 表达量与排卵数的线性回归方程:  $A =$



\*. 表示产多羔组和产单羔组间 *BMPRIA* 或 *BMPRII* 基因表达量差异显著 ( $P < 0.05$ )

\*. The difference of expression level between S and M in Hu sheep is significant ( $P < 0.05$ )

图 3 湖羊卵巢组织中 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因 mRNA 的表达水平

Fig. 3 *BMPRIA* and *BMPRII* mRNA expression in ovaries in Hu sheep

2.34 + 4.40B ( $r = 0.722$ ,  $P = 0.043$ ), 其中 A 为排卵数, B 为卵巢 *BMPRII* mRNA 相对表达量。

### 3 讨论

#### 3.1 湖羊卵巢组织 *BMPRIA* 基因表达水平及其与排卵数的关系

BMPs 有 2 类 I 型受体: *BMPRIA* 和 *BMPRII*, 其中 *BMPRII* 基因即是 Booroola 绵羊多胎性能的主效基因, 其突变体在行为和 *FecB* 基因表型完全一致<sup>[11]</sup>, 原因是 *BMPRII* 基因突变增加了信号传导过程中对受体下游的信号传导强度, 最终导致

卵泡早熟、排卵增加和 Booroola 羊多胎表型的出现<sup>[12]</sup>。但管峰等研究表明 *BMPRII* 基因并非影响湖羊多胎性能的主效基因<sup>[3]</sup>。我们对湖羊另一重要 *BMPRI* 型受体进行了研究, *BMPRIA* 基因组织表达谱分析发现成年发情期湖羊母羊下丘脑、垂体、子宫、卵巢、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉等组织中均有 *BMPRIA* 基因 mRNA 分布, 与牛 *BMPRIA* 基因的组织表达谱一致<sup>[13]</sup>, 说明与其它物种一样, *BMPRIA* 基因在湖羊体内也存在广泛的作用。研究发现 *BMPRIA* 基因在胚胎期小鼠肾脏和心脏的发育中有重要的调控作用<sup>[14]</sup>, *BMPRIA* 基因敲除的纯合子小鼠死于胚胎形成早期, 其心脏发育存在严重缺陷<sup>[15]</sup>。本研究在成年湖羊的肾脏和心脏中检测到 *BMPRIA* 基因表达, 表明该基因对出生后成年动物肾脏和心脏的进一步发育及正常功能的维持也起着重要作用。

研究发现, 在牛卵巢组织中 BMP I 和 II 型受体与其 BMP 配体一起在卵泡发育过程中起着非常重要的作用<sup>[16]</sup>, 猪 *BMPRIA* 基因在卵丘-卵母细胞复合体外培养过程中的卵母和卵丘细胞中持续表达<sup>[17]</sup>, 而小鼠 *BMPRIA* 基因表达量随着卵泡的发育而变化<sup>[18]</sup>, 说明 *BMPRIA* 基因在卵泡发育过程中发挥重要作用。本研究发现, 在成年发情期经产单羔和多羔湖羊卵巢组织中 *BMPRIA* 基因 mRNA 表达水平没有显著差异, 且与排卵数没有显著相关; 进一步的相关分析表明, 湖羊卵巢组织中 *BMPRIA* 与 *BMPRII* 基因 mRNA 表达水平间没有显著的相关性, 提示湖羊 BMP 系统在卵巢中可能并非主要通过 *BMPRIA* 型受体来发挥作用。

表 3 湖羊卵巢 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因 mRNA 表达量间及与排卵数间的相关分析

基因 Gene	项目 Item	排卵数 Ovulation number	基因 Gene
<i>BMPRIA</i>	相关系数 Pearson Correlation	0.330	<i>BMPRIA</i>
	显著水平 Significance level	0.424	
<i>BMPRII</i>	相关系数 Pearson Correlation	0.722*	0.544
	显著水平 Significance level	0.043	0.164

\*. 表示显著相关 ( $P < 0.05$ ),  $n = 16$

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed),  $n = 16$

#### 3.2 湖羊卵巢组织 *BMPRII* 基因表达水平及其与湖羊排卵数的关系

*BMPRII* 是 BMP 系统的 II 型受体, 它可以与

细胞外 BMPs 蛋白结合形成复合物, 并激活 I 型受体, 引起一系列的细胞内级联反应, 是 BMP 信号传导过程中的重要成员。本研究结果表明, 在成年发

情期湖羊母羊下丘脑、垂体、子宫、卵巢、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉、输卵管组织中均有 *BMPRII* mRNA 分布,表明该基因是一个多功能基因,对机体各种组织器官正常生理功能的维持有重要作用。在人上的研究已经表明,*BMPRII* 的突变会导致信号转导通路紊乱,致使肺动脉平滑肌细胞过度增殖,从而引起冠状血管病变<sup>[19]</sup>。

免疫组化研究发现,在卵巢组织 *BMPRII* 蛋白存在于羊初级至有腔发育阶段卵泡的颗粒细胞和卵母细胞内,同时少量存在于黄体、卵巢上皮和有腔卵泡膜层细胞内<sup>[12]</sup>,牛 *BMPRII* 蛋白存在于腔前卵泡的卵母细胞和颗粒细胞以及有腔卵泡的卵母细胞内,并与其它 BMP 系统成员一起对卵泡发育和功能调节起重要作用<sup>[16]</sup>,鸡 *BMPRII* 表达量随着卵泡发育而增加<sup>[20]</sup>,说明 *BMPRII* 基因在卵泡发育过程发挥重要作用。本研究表明,多羔组湖羊卵巢组织中 *BMPRII* mRNA 表达水平显著高于单羔组,进一步的相关性分析表明,卵巢组织中 *BMPRII* 基因表达水平与排卵数呈显著正相关,这说明 *BMPRII* 基因对湖羊的排卵数起一定作用,是 BMP 系统调节湖羊多胎性状、卵泡成熟和排卵的一个关键点,是影响湖羊排卵数的候选基因,但其机理还有待于进一步研究。所建立的湖羊卵巢 *BMPRII* mRNA 表达量与排卵数的线性回归方程相关系数为 0.722,说明 *BMPRII* mRNA 表达量对湖羊排卵数有一定的影响,由于样本含量还不够大,因此,对此还需作更深入的研究。

#### 4 结 论

本研究利用 RT-PCR 技术对成年湖羊母羊 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因组织表达谱进行了研究,发现 *BMPRIA* 和 *BMPRII* 基因除在卵巢组织中均有表达外,还在垂体及下丘脑、子宫、输卵管、心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、肌肉组织中表达。在卵巢组织中,进一步的荧光定量 PCR 研究发现 *BMPRIA* 基因 mRNA 表达水平在单羔组和多羔组间没有显著差异,但是,多羔组 *BMPRII* 基因 mRNA 表达水平显著高于单羔组,相关和回归分析表明 *BMPRII* mRNA 表达水平与排卵数呈显著正相关,因此,*BMPRII* 基因可能对湖羊排卵数起作用,可以作为影响湖羊排卵数的候选基因来进行进一步的分子遗传标记研究,为湖羊多胎选育提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 谢 庄,程瑞禾,韩玉刚. 湖羊公羊产羔效应的统计学分析[J]. 南京农业大学学报,1998,21(1):77-81.
- [2] DAVIS G H. Fecundity genes in sheep[J]. *Anim Reprod Sci*,2004,82-83:247-253.
- [3] 管 峰,艾君涛,刘守仁,等. *BMPRII* 和 *BMP15* 基因作为湖羊多胎性候选基因的研究[J]. 家畜生态学报,2005,26(3):9-12.
- [4] 储明星,成 荣,陈国宏,等. 小尾寒羊和湖羊高繁殖力候选基因 *BMP15* 的研究[J]. 安徽农业大学学报,2005,32(3):278-282.
- [5] 储明星,桑林华,王金玉,等. 小尾寒羊高繁殖力候选基因 *BMP15* 和 *GDF9* 的研究[J]. 遗传学报,2005,32(1):38-45.
- [6] 柳淑芳,姜运良,杜立新. *BMPRII* 和 *BMP15* 基因作为小尾寒羊多胎性能候选基因的研究[J]. 遗传学报,2003,30(8):755-760.
- [7] 储明星,孙 洁,陈宏权,等. 绵羊 *BMP15* 基因 *FecX~L* 突变的检测[J]. 中国农学通报,2007,23(10):85-88.
- [8] 管 峰,艾君涛,庞训胜,等. 绵羊 *GDF9* 和 *BMP15* 基因多态性检测[J]. 生命科学研究,2005,9(2):184-188.
- [9] SHIMASAKI S, ZACHOW R J, LI D, et al. A functional bone morphogenetic protein system in the ovary[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,1999,96(13):7282-7287.
- [10] KAIVO-OJA N, JEFFERY L A, RITVOS O, et al. Smad signalling in the ovary[J]. *Reprod Biol Endocrinol*,2006,21(4):1-13.
- [11] MULSANT P, LECERF F, FABRE S, et al. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-IB is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2001,98(9):5104-5109.
- [12] SOUZA C J, CAMPBELL B K, MCNEILLY A S, et al. Effect of bone morphogenetic protein 2 (*BMP2*) on oestradiol and inhibin A production by sheep granulosa cells, and localization of BMP receptors in the ovary by immunohistochemistry[J]. *Reproduction*,2002,123(3):363-369.
- [13] 张小辉,张路培,许尚忠,等. 牛 *BMPRII* 基因 cDNA 的克隆及组织表达谱分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2008,36(1):38-42.
- [14] DICK A, RISAU W, DREXLER H. Expression of Smad 1 and Smad 2 during embryogenesis suggests a

- role in organ development[J]. *Developmental Dynamics*, 1998, 211(4):293-305.
- [15] GAUSSIN V, van de PUTTE T, MISHINA Y, et al. Endocardial cushion and myocardial defects after cardiac myocyte-specific conditional deletion of the bone morphogenetic protein receptor ALK3[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(5):2878-2883.
- [16] FATEHI AN, van den HURK R, COLENBRANDER B, et al. Expression of bone morphogenetic protein2 (BMP2), BMP4 and BMP receptors in the bovine ovary but absence of effects of BMP2 and BMP4 during IVF on bovine oocyte nuclear maturation and subsequent embryo development[J]. *Theriogenology*, 2005, 63(3):872-889.
- [17] ZHU G, GUO B, PAN D, et al. Expression of bone morphogenetic proteins and receptors in porcine cumulus-oocyte complexes during *in vitro* maturation [J]. *Animal Reproduction Science*, 2008, 104(2-4): 275-283.
- [18] ERICKSON G F, SHIMASAKI S. The spatiotemporal expression pattern of the bone morphogenetic protein family in rat ovary cell types during the estrous cycle[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2003, 1(9):9-28.
- [19] YANG J, DAVIES R J, SOUTHWOOD M, et al. Mutations in bone morphogenetic protein type II receptor cause dysregulation of Id gene expression in pulmonary artery smooth muscle cells: Implications for familial pulmonary arterial hypertension[J]. *Circ Res*, 2008, 102(10):1212-1221.
- [20] ONAGBESAN O M, BRUGGEMAN V, VAN AS P, et al. BMPs and BMPRs in chicken ovary and effects of BMP-4 and -7 on granulosa cell proliferation and progesterone production *in vitro* [J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2003, 285(5):E973-E983.