

# 嘉兴黑猪氟烷基因频率检测初报

刘锐<sup>1,2</sup>, 郁辉<sup>1</sup> (1. 嘉兴职业技术学院, 浙江嘉兴314036; 2. 浙江工业大学, 浙江杭州310024)

**摘要** 随机抽取嘉兴地区部分种猪场嘉兴黑猪血样, 通过PCR-RFLP技术进行氟烷基因检测。结果表明, 31头嘉兴黑猪基因型均为NN, 未出现Nn和nn型基因。该研究为嘉兴黑猪品种资源保护以及合理开发利用提供了理论依据。

**关键词** 嘉兴黑猪; 氟烷基因; PCR-RFLP

中图分类号 Q781 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)18-05442-01

## Preliminary Study on the Distribution Frequency of Halothane Gene of Jiaxing Black Pig

LIU Rui et al (Zhejiang University of Technology, Hangzhou, Zhejiang 310024)

**Abstract** In this experiment, we chose some sample bloods of Jiaxing black pig in Jiaxing area at random and the halothane gene was tested with PCR-RFLP technique. The result showed that the genotype of the 31 Jiaxing black pigs was NN, no Nn and nn genotypes. It provided a theoretical basis for the protection and rational use of Jiaxing black pig species resource.

**Key words** Jiaxing Black Pig; Halothane gene; PCR-RFLP

猪应激综合症(PSS)是猪在外界应激因子,如:高温炎热,转群斗殴等刺激下产生的肌肉的强直收缩,并伴有体温急剧升高,呼吸急促,心跳加快,皮肤发绀等一系列恶性高温综合症状(MHS),某些个体往往因此发生突然死亡或宰后产生PSE肉。据研究PSS是受常染色体上的隐性基因(Hal<sup>n</sup>)控制的,隐性纯合体表现对氟烷麻醉敏感因而称氟烷基因。Knudson等(1990)发现兰尼受体(RYR1)的胰蛋白酶消化图谱MH敏感猪与MH正常猪不同,建议RYR1基因作为氟烷基因的主要候选基因。Fujii(1991)克隆和测序了皮特兰猪(MH敏感)和大白猪(MH正常)的全长RYR1cDNA序列,分析表明有18处发生突变,唯有C<sup>1843</sup>突变为T<sup>1843</sup>引起arg<sup>615</sup>cys<sup>615</sup>,从而确认了猪应激综合症的分子遗传基础。猪RYR1基因cDNA的克隆和序列分析结果为PSS的PCR检测提供了基础。

嘉兴是长江三角洲重要的生猪生产基地,而嘉兴黑猪是目前嘉兴主要养殖品种之一,素以产子多、性成熟早、耐粗饲料、肉质优而著称。但目前关于嘉兴黑猪氟烷基因检测数据还未见报道,同时随着嘉兴黑猪原种猪场的建立迫切需要建立一个嘉兴黑猪氟烷基因频率分布数据以便合理地保种和选育。为此笔者采用PCR-RFLP技术对嘉兴黑猪进行氟烷基因检测,希望在初步了解嘉兴黑猪氟烷基因分布频率的基础上,为嘉兴黑猪品种资源保护以及合理开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方

### 1.1 实验材料

**1.1.1 血样。**随机抽取嘉兴地区部分种猪场嘉兴黑猪血样。

**1.1.2 试剂。**基因组DNA抽提试剂盒,Taq酶,dNIP,引物:5'-TCCAGTTT GCCACAGGTCCTACCA-3'和5'-ATTCACCGAGTGGAGTCTCTGAG-3',均购自上海生工公司;Marker,Hha酶,均购自华美生物工程公司。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 采血。**取猪颈静脉血5ml,用0.5ml 2%的EDTA抗凝,冷藏备用。

**1.2.2 基因组DNA抽提。**参照基因组DNA抽提试剂盒说

明抽提。

**1.2.3 PCR扩增。**加入10×PCR Buffer 2.5μl,每对引物各0.24μmol/L,5Uμl Taq酶0.3μl,10mmol/L dNTP 0.5μl,DNA模板3μl于0.5ml离心管中后加双蒸水至25μl,按如下程序进行:94℃变性5min后进入循环,93℃40s变性,55℃30s复性,72℃1.5min延伸,30个周期后72℃延伸10min。

**1.2.4 酶切产物电泳观察结果。**取10μl PCR产物,10Uμl Hha酶0.5μl,加水至20μl,37℃恒温3h,产物用2.0%的琼脂糖凝胶电泳观察结果并拍照。

## 2 结果与分析

Hha内切酶的识别位点为5'GCGC3'。PCR扩增产物是含RYR1基因第1843位点长度为659bp的片段。如果猪的基因型为Hal<sup>NN</sup>,由于未发生胞核到胸腺的突变,因而659bp扩增产物被酶切为493和166bp,因此可以看到2条带。如果基因型为Hal<sup>nn</sup>时,Hha内切酶不能识别,对PCR产物不能酶切,所以只能看到659bp 1条带。而对于杂合子,659bp扩增产物可以见到659、493和166bp 3条带。该实验31头嘉兴黑猪基因型均为Hal<sup>nn</sup>,即氟烷阴性纯合子。

该研究表明,嘉兴黑猪氟烷基因较少。虽然氟烷阳性纯合子可以对畜牧业造成损失,但近年来部分专家研究表明,氟烷基因杂合子在瘦肉率、眼肌面积等方面更具优势。根据嘉兴畜牧业的实际情况,应利用嘉兴黑猪氟烷基因频率小的特点,通过对商品猪群中氟烷基因杂合子的研究,加强选育以及合理开发利用工作,以进一步提高养猪的经济效益。

## 参考文献

- [1] FUJII J, QISUK, ZORAT F, et al. Identification of mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia[J]. Science, 1991, 253: 448-451.
- [2] OISU K, PHILLIPS M, KHANNA V, et al. Refinement of diagnostic assays for a probable causal mutation for porcine and human malignant hyperthermia[J]. Genomics, 1992, 13: 835-837.
- [3] 杜立新, 王爱华, 姜运良, 等. 猪RYR1基因的检测及其对生产性能的遗传效应[J]. 畜牧兽医学报, 2001, 32(6): 481-486.
- [4] 胡有根, 黄元良, 姚国良. 嘉兴黑猪种质资源保护现状及发展对策[J]. 浙江畜牧兽医, 2003(4): 14.
- [5] 蒋思文, 吴桢方, 熊远著. 用聚合酶链式反应技术鉴别猪氟烷基因型[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 473-476.
- [6] 帅素容, 罗安治, 程支中, 等. 氟烷基因与猪经济性状的相关研究[J]. 西南农业大学学报, 2002, 24(3): 251-254.
- [7] 徐小波, 刘铁铮, 许康朴, 等. 苏钟I系和II系猪的氟烷基因及其对产肉性能的影响[J]. 中国兽医学报, 2000, 29(4): 397-400.

**作者简介** 刘锐(1977-),男,河北魏县人,在读硕士,讲师,从事畜牧方面的研究。

收稿日期 2007-03-20