

湖羊、东湖杂种羊 *POMC* 基因外显子 3 单核苷酸多态性及其与生长性状的关联分析^{*}

王春玲¹, 孟晨玲¹, 曹少先², 张俊², 孟春花², 王慧利², 方永飞³, 朱冬冬⁴, 茆达干¹

1. 南京农业大学动物科技学院, 南京 210095;

2. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 南京 210014;

3. 上海永辉羊业有限公司, 上海 201808;

4. 上海市嘉定区动物疫病预防控制中心, 上海 201800

摘要: 阿黑皮素原 (Pro-opiomelanocortin, POMC) 在动物采食和能量平衡调控中发挥重要作用, 文章对绵羊 *POMC* 基因外显子 3 进行扩增和测序, 筛选多态性位点, 并分析多态位点与湖羊和东弗里生×湖羊杂种羊生长性状的相关性。测序后发现湖羊 *POMC* 基因外显子 3 有 2 个单碱基突变 (g.273 T/C 和 g.456 G/A), 根据 273 位点处发生 T/C 突变, 建立 PCR-RFLP 分析方法, 并对 162 只湖羊和 130 只东湖杂种羊进行检测分析。结果发现, 在湖羊群体中检测到 TT (0.469)、TC (0.438) 和 CC (0.093) 3 种基因型, 而在东湖杂种羊群体中仅检测到 TT (0.754) 和 TC (0.246) 两种基因型。*POMC* 基因外显子 3 的 273 位点多态性与生长性状的相关性研究结果显示: 湖羊群体中 CC 基因型个体的 2 月龄断奶重、4 月龄尻高及 TC 基因型个体 4 月龄体长和管围均显著高于 TT 型个体 ($P<0.05$); CC 基因型个体的 4 月龄重、6 月龄重极显著高于 TT 和 TC 基因型个体 ($P<0.01$); CC 基因型个体的 4 月龄体高和体长极显著高于 TT 型个体 ($P<0.01$), 且显著高于 TC 基因型个体 ($P<0.05$)。此外, CC 型个体的管围极显著高于 TT 基因型个体 ($P<0.01$)。东湖杂种羊群体中 TC 基因型个体的 2 月龄断奶重、4 月龄重及 4 月龄体高、体长、胸深和管围都显著高于 TT 型个体 ($P<0.05$), TC 型个体的 6 月龄重极显著高于 TT 型个体 ($P<0.01$)。研究结果表明, *POMC* 基因外显子 3 与绵羊生长性状相关, C 等位基因对体重及体尺性状的增加更有利。该结果为进一步探讨 *POMC* 基因作为绵羊生长性状的辅助选育标记奠定了基础。

关键词: 阿黑皮素原; PCR-RFLP; 绵羊; 生长性状

收稿日期: 2013-03-30; **修回日期:** 2013-06-03

基金项目: 上海市科委重点科技攻关项目 (编号: 09391910600) 资助

作者简介: 王春玲, 硕士研究生, 专业方向: 动物分子生物学。E-mail: fengling2006_@126.com

通讯作者: 茆达干, 博士, 副教授, 研究方向: 肉羊繁育。E-mail: maodagan@njau.edu.cn

Single nuclear polymorphisms in exon 3 of *POMC* gene and the association with growth traits in Hu sheep and East Friesian × Hu crossbred sheep

WANG Chun-Ling¹, MENG Chen-Ling¹, CAO Shao-Xian², ZHANG Jun², MENG Chun-Hua², WANG Hui-Li², FANG Yong-Fei³, ZHU Dong-Dong⁴, MAO Da-Gan¹

1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

3. Shanghai Yonghui Sheep Industry Co., LTD, Shanghai 201808, China;

4. Animal Disease Prevention and Control Center of Jiading District, Shanghai 201800, China

Abstract: Pro-opiomelanocortin (*POMC*) plays important roles in the regulation of food intake and energy expenditure. The sheep exon 3 of gene *POMC* was amplified and sequenced by screening the DNA pools to select single nuclear polymorphisms and analyze the association with the growth traits. Two silent SNP mutations (g.273 T/C and g.456 G/A) in Hu sheep were identified. PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) was used to test the g.273 T/C and the association between the g.273 T/C polymorphism and some growth traits was analyzed in Hu sheep ($n=162$) and East Friesian × Hu crossbred sheep ($n=130$). The results showed that three genotypes, *TT*, *TC* and *CC*, were detected in Hu sheep with the frequencies of 0.469, 0.438 and 0.093, respectively. Two genotypes, *TT* and *TC*, were detected in East Friesian × Hu crossbred sheep with the frequencies of 0.754 and 0.246, respectively. The association analysis showed that in Hu sheep the two-month weaning weight, four-month rump height of genotype *CC* and the four-month body length, cannon circumference of genotype *TC* were significantly higher than that of genotype *TT* ($P<0.05$); The four- and six-month weight of genotype *CC* were significantly higher than that of genotypes *TT* and *TC* ($P<0.01$); The four-month body height and body length of genotype *CC* were significantly higher than that of genotypes *TT* ($P<0.01$) and *TC* ($P<0.05$); The four-month cannon circumference of *CC* genotype was significantly higher than that of *TT* genotype ($P<0.01$). In East Friesian × Hu crossbred sheep the two-month weaning weight, four-month weight, body height, body length, chest depth and cannon circumference of genotype *TC* were significantly higher than that of genotype *TT* ($P<0.05$); The six-month weight of genotype *TC* was significantly higher than that of genotype *CC* ($P<0.01$). In conclusion, the exon 3 of gene *POMC* was associated with growth traits, and *C* allele was beneficial to the increase of body weight and body size traits of sheep, which potentially afford a good foundation for further study on *POMC* gene as aided breeding markers for growth traits in sheep.

Keywords: *POMC*; PCR-RFLP; sheep; growth traits

阿黑皮素原 (Pro-opiomelanocortin, *POMC*) 是一个大分子的多蛋白激素前体, 主要在脑垂体、下丘脑弓状核、髓质及一些外周组织 (如免疫系统、皮肤) 中合成^[1-4]。*POMC* 转录后经激素原转换酶 PC-1、PC-2 作用, 在特定组织生成生物活性多肽, 包括黑素皮质素、促肾上腺皮质激素 (ACTH)、 β -内啡肽、 α -促黑素细胞激素 (Melanophore stimulating hormone, MSH)、 β -MSH 及 γ -MSH^[5, 6]。*POMC* 神经元主要通过其分解产物 MSH 与脑中黑素皮质素受体作用调节采食和能量平衡^[2, 7]。此外, *POMC* 在应激反应、色素沉着、体温调节、繁殖和免疫机能等方面也发挥重要的调控作用^[8, 9]。有报道称 *POMC* 基因敲除小鼠由于缺乏 α -MSH 而表现暴食和肥胖^[10], 体内过表达 *POMC* mRNA 显著降低肥胖鼠的体重和褐色脂肪组织质量^[11]。人 *POMC* 基因定位于 2p23.3, 在营养物质进食量的数量性状基因座 (Quantitative trait locus, QTL) (2p22)^[12]、血清瘦素水平 QTL (2p21)^[13] 和肥胖 QTL^[14] 附近, 编码 267 个氨基酸, 由 3 个外显子和 2 个内含子组成。研究表明, *POMC* 基因突变可引起人早发性肥胖^[15-17]。

绵羊 *POMC* 基因虽然已经被克隆^[18], 但关于 *POMC* 基因的多态性及其与生长性状相关性的研究尚未见报道。因此, 本研究对湖羊和东湖杂种羊 *POMC* 基因外显子 3 进行了克隆和测序, 寻找多态性位点, 并分析其与生长性状的相关性, 以期检测到与生长性状密切相关的分子标记, 从而为绵羊分子标记辅助育种提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

162 只湖羊公羊和 130 只东弗里生羊 \times 湖羊 (东湖杂种羊) 公羊体重、4 月龄体尺指标由上海永辉种羊场提供, 所有实验羊均按国际 NRC 标准由专人统一饲养。每个个体取耳组织样于冻存管中, 置冰盒中带回实验室, -20°C 保存。

1.2 方法

1.2.1 组织样 DNA 提取

耳组织样的 DNA 提取采用酚/氯仿抽提法, TE buffer 溶解后, -20°C 保存。

1.2.2 *POMC* 基因外显子 3 扩增

参照绵羊 *POMC* 基因外显子 3 序列 (GenBank 登录号: NM_001009266.1) 设计引物, 上、下游引物序列分别为 5'-GATCGAGAACCCCGGAAGTACGT-3' 和 5'-TCTCTTCGTGGGCGTTTTTCGATGA-3'。PCR 反应总体积 20 μL , 其中含模板 DNA 60 ng, *Taq* 聚合酶 (5 U/ μL) 0.2 μL , dNTP (10 mmol/L) 0.4 μL , 引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.6 μL ,

MgCl₂ (25 mmol/L) 1.6 μL, 10×缓冲液 2 μL, 加灭菌蒸馏水至 20 μL。PCR 反应程序: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 65℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 36 s, 35 个循环; 最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭 (EB) 染色, 检测扩增结果。

1.2.3 多态位点测序筛选

将 25 只湖羊随机分成 5 组 ($n=5$), 取等量 DNA 混合, 将 5 个混合 DNA 进行 PCR 扩增, 电泳纯化后的 PCR 产物送上海美吉生物医药科技有限公司测序。

1.2.4 PCR-RFLP 分析

根据测序结果选择 273 bp 处的多态位点, 建立 PCR-RFLP 检测方法, 设计一对引物扩增湖羊及东湖杂种羊 *POMC* 基因 *TaaI* 位点上游 75 bp、下游 343 bp, 共 418 bp 的序列, 上游引物序列: 5'-AGCAGCCGCTGACTGAGAA-3', 下游引物序列:

5'-GCCTCTGCCACCAGACCAT-3'。PCR 反应总体系 20 μL, 含模板 DNA 60 ng, *Taq* 聚合酶 (5 U/μL) 0.2 μL, dNTP (10 mmol/L) 0.4 μL, 引物 (10 μmol/L) 各 0.6 μL, MgCl₂ (25 mmol/L) 1.6 μL, 10×缓冲液 2 μL, 加灭菌蒸馏水至 20 μL。PCR 反应程序: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 62℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环; 最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭 (EB) 染色, 检测扩增结果。

用 *Taa I* 对 PCR 扩增产物进行酶切。酶切反应体系 16 μL, 含 PCR 产物 5 μL, *TaaI* (10 U/μL) 0.5 μL, 10×Buffer Tango 1 μL, 灭菌蒸馏水 9.5 μL。65℃ 酶切 3 h。2% 琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物, EB 染色, 培清 JS-780 全自动凝胶成像分析仪进行拍照分析。

1.2.5 数据分析

湖羊和东湖杂种羊群体不同基因型的体重及 4 月龄体尺数据分别用 SPSS13.0 软件的 One-Way ANOVA 和 Independent-Samples T Test 进行关联分析, 各指标以平均值 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 *POMC* 基因片段的扩增及测序筛选 SNP

对湖羊 *POMC* 基因外显子 3 进行 PCR 扩增, 在 500~750 bp 间出现一条特异性条带与预期结果 (575 bp) 一致。测序结果显示, 在 *POMC* 基因外显子 3 的 273 bp 处出现 T/C 单碱基突变, 在 456 bp 处出现 G/A 突变 (图 1)。经分析 273 bp 处 T/C 突变处于 *TaaI* 酶切位点内。

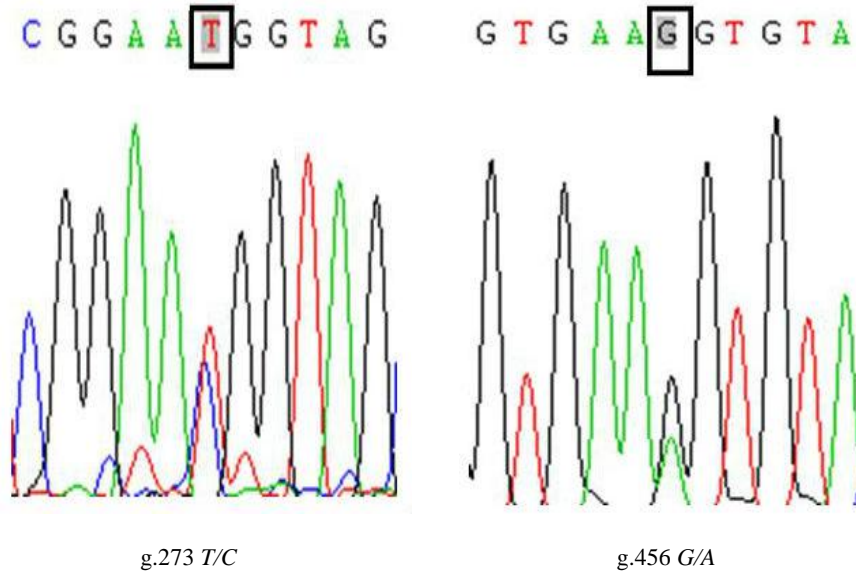
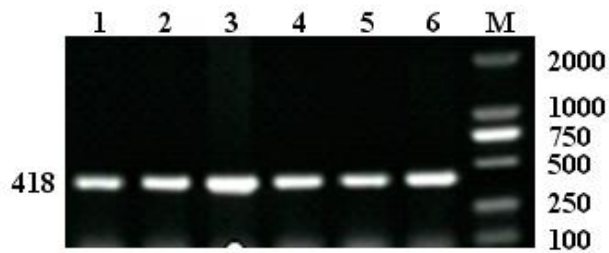


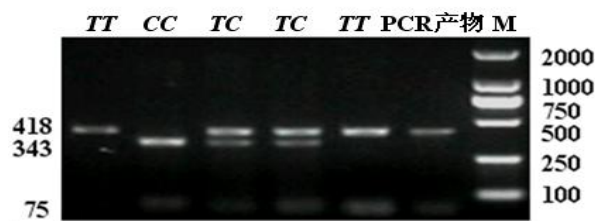
图 1 *POMC* 基因外显子 3 单碱基突变

2.2 PCR-RFLP 检测方法的建立

针对 273 bp 处的 *T/C* 单碱基突变设计特异性引物，对湖羊和东湖杂种羊共 292 个个体 DNA 进行 PCR 扩增，在 250 bp 和 500 bp 之间得到一条特异性条带（图 2A），与预期结果一致。用限制性内切酶 *TaaI* 对 PCR 扩增产物进行消化，以 PCR 产物作为对照，如果 PCR 产物在该碱基处为 T，则 PCR 产物切不开；如果 PCR 产物在该碱基处为 C，经 *TaaI* 酶切为 343 bp 和 75 bp 两个片段；如为杂合，经 *TaaI* 酶切为 418 bp、343 bp 和 75 bp 3 条片段（图 2B）。将部分检测结果和 DNA 测序对比，结果二者完全一致。



A



B

图 2 绵羊 *POMC* 基因片段 PCR 扩增电泳图（A）及 *TaaI* 酶切电泳分析（B）

2.4 POMC 基因群体遗传学分析

2.4.1 基因频率及基因型频率在绵羊群体中的分布

在湖羊群体中检测到 3 种基因型，以 *TT* 型居多，*TC* 型次之，*CC* 型最少；在东湖杂种羊群体中仅检测到 *TT* 和 *TC* 两种基因型，且 *TT* 型多于 *TC* 型。在两个群体中，*T* 等位基因的频率均高于 *C* 等位基因，*T* 等位基因为优势基因（表 1）。

2.4.2 遗传特性分析

基因座位在两个群体中的多态信息含量、杂合度、有效等位基因数及 χ^2 检验见表 1。此多态位点在湖羊群体中为中度多态 ($0.25 < PIC < 0.5$)，而在东湖杂种羊群体中表现为低度多态 ($PIC < 0.25$)，表明该多态位点在湖羊群体中存在较强的选择潜力。该基因座位在两个群体中均显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ($P < 0.05$)。

表1 POMC基因群体遗传学分析

群体	基因型频率			等位基因频率		多态信息含量 (<i>PIC</i>)	杂合度 (<i>He</i>)	有效等位基因数 (<i>Ne</i>)	χ^2 (<i>P</i> 值)
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>T</i>	<i>C</i>				
湖羊	0.469 (76/162)	0.438 (71/162)	0.093 (15/162)	0.688	0.312	0.337	0.429	1.752	$P < 0.05$
东湖杂种羊	0.754 (98/130)	0.246 (32/130)	0.000 (0/130)	0.877	0.123	0.192	0.216	1.275	$P < 0.05$

2.5 不同基因型对体重及 4 月龄体尺的影响

2.5.1 不同基因型对湖羊体重及 4 月龄体尺性状的影响

POMC 基因 273 bp 处 *T/C* 突变与湖羊体重及体尺性状相关性分析见表 2。结果表明：在湖羊群体中 *CC* 基因型个体的 2 月龄断奶重、4 月龄尻高及 *TC* 基因型个体 4 月龄体长和管围均显著高于 *TT* 型个体 ($P < 0.05$)；*CC* 基因型个体的 4 月龄重、6 月龄重极显著高于 *TT* 和 *TC* 基因型个体 ($P < 0.01$)；*CC* 基因型个体的 4 月龄体高和体长极显著高于 *TT* 型个体 ($P < 0.01$)，且显著高于 *TC* 基因型个体 ($P < 0.05$)。此外，*CC* 型个体的管围极显著高于 *TT* 基因型个体 ($P < 0.01$)。而其他 4 月龄体尺指标，3 种基因型差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.5.2 不同基因型对东湖杂种羊体重及 4 月龄体尺性状的影响

POMC 基因 273 bp 处 *T/C* 突变与东湖杂种羊生长性状的相关性分析见表 3。在东湖杂种羊群体中 *TC* 基因型个体的 2 月龄断奶重、4 月龄重及 4 月龄体高、体长、胸深和管围都

显著高于 *TT* 型个体 ($P<0.05$), *TC* 型个体的 6 月龄重极显著高于 *TT* 型个体 ($P<0.01$), 而初生重和其他 4 月龄体尺指标二者差异不显著 ($P>0.05$)。

表 2 湖羊 *POMC* 基因不同基因型的生长性状值

性状	基因型 (Mean \pm SD)		
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>
2月龄断奶重 (kg)	17.063 \pm 2.994 ^b	17.410 \pm 3.236	18.850 \pm 3.455 ^a
4月龄重 (kg)	24.041 \pm 3.878 ^B	24.793 \pm 3.634 ^B	27.706 \pm 3.904 ^A
6月龄重 (kg)	37.970 \pm 3.575 ^B	38.800 \pm 2.894 ^B	42.600 \pm 2.468 ^A
4月龄体高 (cm)	55.970 \pm 0.843 ^B	57.810 \pm 0.744 ^b	62.000 \pm 1.871 ^{Aa}
4月龄体长 (cm)	60.850 \pm 4.768 ^{Bb}	63.250 \pm 3.398 ^{ba}	66.780 \pm 5.069 ^{Aa}
4月龄胸围 (cm)	70.410 \pm 5.229	71.340 \pm 4.512	73.000 \pm 5.454
4月龄胸深 (cm)	27.820 \pm 3.070	27.590 \pm 2.284	29.560 \pm 3.712
4月龄腰角宽 (cm)	10.650 \pm 1.952	11.000 \pm 1.626	11.560 \pm 2.242
4月龄尻高 (cm)	55.740 \pm 4.508 ^b	55.810 \pm 3.788	58.890 \pm 3.723 ^a
4月龄管围 (cm)	7.410 \pm 0.857 ^{Bb}	7.940 \pm 0.801 ^a	8.330 \pm 1.225 ^A

注: 同行不同小写字母上标的平均值间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母上标之间差异极显著 ($P<0.01$), 下同。

表 3 东湖杂种羊 *POMC* 基因不同基因型的生长性状值

性状	基因型 (Mean \pm SD)	
	<i>TT</i>	<i>TC</i>
初生重 (kg)	2.869 \pm 0.265	2.993 \pm 0.404
2月龄断奶重(kg)	13.379 \pm 2.575 ^b	15.280 \pm 3.904 ^a
4月龄重 (kg)	20.633 \pm 3.314 ^b	22.952 \pm 4.665 ^a
6月龄重 (kg)	27.894 \pm 3.767 ^B	33.295 \pm 7.579 ^A
4月龄体高(cm)	53.200 \pm 3.494 ^b	55.590 \pm 6.329 ^a
4月龄体长 (cm)	51.940 \pm 3.840 ^b	55.000 \pm 6.461 ^a
4月龄胸围(cm)	69.800 \pm 6.515	70.440 \pm 7.392
4月龄胸深(cm)	28.590 \pm 1.419 ^b	29.190 \pm 1.469 ^a
4月龄腰角宽(cm)	12.970 \pm 1.291	13.190 \pm 1.281
4月龄尻高(cm)	54.950 \pm 3.202	56.090 \pm 3.306
4月龄管围 (cm)	7.450 \pm 0.741 ^b	7.940 \pm 1.014 ^a

3 讨论

大量研究表明, *POMC* 基因在动物采食和能量平衡调控中起重要作用。张春雷等^[19]研究发现在牛 *POMC* 基因的 3'侧翼区存在 3 个连锁存在的 SNPs (811845 C/T、811821 T/C 和 811797 A/G), 且与 6 月龄体重和 0~6 月龄平均日增重显著相关。Bai 等研究发现鸡 *POMC* 基因 C495T 突变与四周龄骨盆宽和两周龄体重显著相关, 与 12 周龄胸深极显著相关^[20]。而绵羊 *POMC* 基因多态性及其与生长性状相关性的研究尚未见报道。

本研究以 *POMC* 基因为候选基因, 结合 DNA 池 PCR 扩增产物测序方法, 新发现了绵羊 *POMC* 基因外显子 3 有 2 个多态位点, 即 273 bp 处 T/C 和 456 bp 处的 G/A 突变。分析发现 273 bp 处 T/C 突变产生限制性内切酶 *TaaI* 识别位点, 据此建立 PCR-RFLP 检测方法, 对湖羊和东湖杂种羊两个群体进行检测。结果在湖羊群体中检测到 3 种基因型, 在东湖杂种羊群体中仅发现 TT 和 TC 两种基因型。在东湖杂种羊群体中未检测到 CC 基因型的原因, 可能是 T 基因是优势基因, CC 基因型频率过低, 研究的样本量较少, 不足以筛查出此基因型。该基因座位在湖羊群体中表现中度多态, 在东湖杂种羊群体表现低度多态, 说明其在湖羊群体中具有较强的选择潜力, 且该多态位点在两个群体中均未达到 Hardy-Weinberg 平衡。由于 456 bp 处的 G/A 突变引物不易设计, 即使用人为创造酶切位点的方法也不能找到合适的限制性内切酶。因此, 该位点还需探索其他的检测方法来进行进一步的研究。

本研究分析了 273 bp 处 T/C 突变不同基因型与两个绵羊群体的体重及体尺性状之间的关联性。湖羊群体单因素方差分析的结果表明, CC 基因型个体体重、4 月龄体高、体长、尻高、管围及 TC 基因型个体的 4 月龄体长和管围均显著高于 TT 基因型个体; 东湖杂种羊群体独立样本 *t* 检验分析的结果显示, TC 基因型的 2 月龄断奶重、4 月龄重及 4 月龄体高、体长、胸深和管围均显著高于 TT 型, TC 型的 6 月龄重极显著高于 TT 型。综合两个群体的分析结果可以发现该位点与体重及体尺有一定的相关性, C 等位基因对体重及体高、体长、管围等体尺性状的增加更有利, 表明该位点可以作为影响绵羊生长性状候选多态位点进行更为深入的研究。273 位点 T/C 突变是无义突变, 虽然无义突变不能引起氨基酸的变化, 但是它可能与编码区中其他突变相连锁或者通过修正 RNA 的加工、蛋白质的翻译及折叠过程而影响基因的转录效率, 从而引起生产性状的表型差异^[21,22]。

此外, *POMC* 基因还参与体脂分布的调控。Baker 等^[23]的研究表明, 人 *POMC* 基因突变与衡量体脂分布指标的腰臀比例存在极显著相关性。因体脂分布能够影响肉的品质, 所以体脂分布已成为畜禽育种工作者密切关注的问题。本研究未涉及肉品质指标, *POMC* 基因是否会影响绵羊肉品质还有待于进一步研究。

参考文献(References):

- [1] Pritchard LE, Turnbull AV, White A. Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signalling and obesity. *J Endocrinol*, 2002, 172(3): 411-421.
- [2] Wardlaw SL. Hypothalamic proopiomelanocortin processing and the regulation of energy balance. *Eur J Pharmacol*, 2011, 660(1): 213-219.
- [3] Yeo GSH, Farooqi IS, Challis BG, Jackson RS, O'Rahilly S. The role of melanocortin signalling in the control of body weight: evidence from human and murine genetic models. *QJM*, 2000, 93(1): 7-14.
- [4] D'Agostino G, Diano S. Alpha-melanocyte stimulating hormone: production and degradation. *J Mol Med*, 2010, 88(12): 1195-1201.
- [5] Hadley ME, Haskell-Luevano C. The Proopiomelanocortin system. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 885: 1-21.
- [6] Castro MG, Morrison E. Post-translational processing of proopiomelanocortin in the pituitary and in the brain. *Crit Rev Neurobiol*, 1997, 11(1): 35-57.
- [7] Lee M, Wardlaw SL. The central melanocortin system and the regulation of energy balance. *Front Biosci*, 2007, 12(1): 3994-4010.
- [8] Kawamura K, Kouki T, Kawahara G, Kikuyama S. HyPoPhyseal development in vertebrates from amphibians to mammals. *Gen Comp Endocrinol*, 2002, 126(2): 130-135.
- [9] Lee M, Kim A, Conwell IM, Hraby V, Mayorov A, Cai M, Wardlaw SL. Effects of selective modulation of the central melanocortin-3-receptor on food intake and hypothalamic *POMC* expression. *Peptides*, 2008, 29(3): 440-447.
- [10] 王斌, 章卫平. 瘦素调节下丘脑神经肽 Agouti 相关蛋白表达的研究进展. 第二军医大学学报, 2009, 30(5): 569-572.
- [11] Li G, Mobbs CV, Scarpace PJ. Central pro-opiomelanocortin gene delivery results in hypophagia, reduced visceral adiposity, and improved insulin sensitivity in genetically obese zucker rats. *Diabetes*, 2003, 52(8): 1951-1957.
- [12] Cai G, Cole SA, Bastarrachea RA, Maccluer JW, Blangero J, Comuzzie AG. Quantitative trait locus determining dietary macronutrient intakes is located on human chromosome 2p22. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80(5): 1410-1414.
- [13] Rotimi CN, Comuzzie AG, Lowe WL, Luke A, Blangero J, Cooper RS. The quantitative trait locus on chromosome 2 for serum leptin levels is confirmed in African-Americans. *Diabetes*, 1999, 48(3): 643-644.
- [14] Hager J, Dina C, Francke S, Dubois S, Houari M, Vatin V, Vaillant E, Lorentz N, Basdevant A, Clément K, Guy-Grand B, Froguel P. A genome-wide scan for human obesity genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 10. *Nat Genet*, 1998, 20(3): 304-308.
- [15] Challis BG, Pritchard LE, Creemers JW, Delplanque J, Keogh JM, Luan J, Wareham NJ, Yeo GS, Bhattacharyya S, Froguel P, White A, Farooqi IS, O'Rahilly S. A missense mutation disrupting a dibasic prohormone processing site in pro-opiomelanocortin (*POMC*) increases susceptibility to early-onset obesity through a novel molecular mechanism. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(17): 1997-2004.

- [16] Hung CN, Poon WT, Lee CY, Law CY, Chan AY. A case of early-onset obesity, hypocortisolism, and skin pigmentation problem due to a novel homozygous mutation in the proopiomelanocortin (*POMC*) gene in an Indian boy. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2012, 25(1-2): 175-179.
- [17] Kuehnen P, Mischke M, Wiegand S, Sers C, Horsthemke B, Keil T, Lee YA, Grueter A, Krude H. An Alu element-associated hypermethylation variant of the *POMC* gene is associated with childhood obesity. *PLoS Genet*, 2012, 8(3): e1002543.
- [18] Stevens A, Begum G, Cook A, Connor K, Rumball C, Oliver M, Bloomfield F, White A. Epigenetic changes in the hypothalamic proopiomelanocortin and glucocorticoid receptor genes in the ovine fetus after periconceptional undernutrition. *Endocrinology*, 2010, 151(8): 3652-3664.
- [19] 张春雷, 王艳红, 陈宏, 雷初朝, 房兴堂, 王居强, 马桂变, 牛晖, 肖杰. 牛 *POMC* 基因多态性及其与南阳牛生长性状的相关分析. *遗传*, 2009, 31(12): 1221-1225.
- [20] Bai YC, Sun GR, Kang XT, Han R, Tian Y, Li H, Wei Y, Zhu S. Polymorphisms of the pro-opiomelanocortin and agouti-related protein genes and their association with chicken production traits. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(7): 7533-7539.
- [21] Plotkin J B, Kudla G. Synonymous but not the same: the causes and consequences of codon bias. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(1): 32-42.
- [22] Ren G, Chen H, Zhang LZ, Lan XY, Wei TB, Li MJ, Jing YJ, Lei CZ, Wang JQ. A coding SNP of *LHX4* gene is associated with body weight and body length in bovine. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(1): 417-422.
- [23] Baker M, Gaukrodger N, Mayosi BM, Imrie H, Farrall M, Watkins H, Connell JM, Avery PJ, Keavney B. Association between common polymorphisms of the proopiomelanocortin gene and body fat distribution. *Diabetes*, 2005, 54(8): 2492-2496.