

寿光鸡 *GPR147* 基因 5' 调控区多态性与产蛋性状的关联分析

贾美婷, 李显耀, 康 丽, 姜运良, 樊新忠, 唐 辉*

(山东农业大学动物科技学院, 泰安 271018)

摘 要: 为了了解 *GPR147* 基因多态性及其与产蛋性状的关系, 本试验以寿光鸡为试验材料, 用直接测序的方法检测了寿光鸡该基因 5' 调控区的 SNPs, 并与产蛋性状进行了关联分析。结果发现, *GPR147* 基因的 5' 调控区在鸡群中共有 11 个 SNPs 位点, 其中 -593 和 -579 位点的不同基因型在后期 (45~56 周) 产蛋量和 56 周总产蛋数有显著差异 ($P < 0.05$); -593 位点 TT 基因型对应较高产蛋数, -579 位点 AA 基因型对应较高产蛋数。上述两个位点的单倍型分析结果表明, 单倍型 TA 与 CG 相比, 中期 (26~44 周) 产蛋量多了 1.5 枚 ($P = 0.0418$), 后期产蛋量多 2.5 枚 ($P = 0.0326$), 300 天产蛋量多 1.6 枚 ($P = 0.1$), 56 周总产蛋量多 4.4 枚 ($P = 0.0144$)。综上, *GPR147* 5' 调控区存在丰富的 SNPs 位点, -593 和 -579 位点 SNPs 及其单倍型对寿光鸡的产蛋性状有显著影响, 是具有潜在应用价值的分子标记。

关键词: 鸡; 产蛋性能; *GPR147* 基因; 多态性

中图分类号: S813.2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2016)01-0034-07

Association of Polymorphisms in the 5' Regulatory Region of *GPR147* with Laying Performance in Shouguang Chickens

JIA Mei-ting, LI Xian-yao, KANG Li, JIANG Yun-liang, FAN Xin-zhong, TANG Hui*

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: To investigate the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *GPR147* gene and the correlations between SNPs and laying traits, the SNPs in the 5' regulatory region of *GPR147* of Shouguang chicken were detected by direct sequencing method and their associations with laying traits of Shouguang chickens were analyzed. The results showed that there were 11 SNPs loci in the 5' regulatory region of *GPR147* gene detected in the population. The -593 and -579 loci had significant effects on egg production from 45- to 56-week-old and total egg number until 56-week-old ($P < 0.05$). Genotype TT at the -593 locus and AA at -579 locus were associated with higher egg production. Haplotype analysis of the 2 loci showed that hens with haplotype TA laid 1.5, 2.5, 1.6 and 4.4 eggs more than that with haplotype CG during 26-44 weeks of age ($P = 0.0418$), 45-56 weeks of age ($P = 0.0326$), the period until 300 days of age ($P = 0.1$) and the total period until 56 weeks of age ($P = 0.0144$), respectively. In summary, the 5' regulatory region of the *GPR147* has highly polymorphic, SNPs and haplotypes at -593 and -579 loci have significant impacts on the egg number of Shouguang chickens, and they can be used as potential and valuable candidate molecular markers.

收稿日期: 2015-01-21

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系项目 (SDAIT-13-011-02)

作者简介: 贾美婷 (1989-), 女, 山东济宁人, 硕士生, 主要从事动物遗传与育种研究, E-mail: jiameiting2008@163.com

* 通信作者: 唐 辉, 副教授, 硕士生导师, E-mail: tanghui@sdau.edu.cn

Key words: chicken; laying traits; GPR147 gene; polymorphism

促性腺激素抑制激素(GnIH)是2000年K. Tsutsui等在日本鹌鹑中发现的一种下丘脑十二肽,能够抑制促性腺激素的合成和释放^[1]。研究显示,GnIH广泛存在于鸟类、鱼类及哺乳动物的下丘脑——垂体——性腺轴(HPG轴)上^[2-5],通过多种方式参与生殖调控^[6-7]。T. Ikemoto等和J. A. Bonini等报道鸡的GnIH有两种受体(RFRPR和NPF-R),其中RFRPR又称为GPR147基因,主要在垂体表达^[8-9]。GnIH与其受体GPR147结合,抑制腺苷酸环化酶活性,从而降低细胞内cAMP水平,干扰G蛋白耦联受体(包括GnRH、LH、FSH受体)信号传导^[10]。T. Osugi等研究发现,给麻雀注射GnIH能快速减少血浆LH水平,同时注射GnIH和鸡促性腺激素释放激素I(cGnRH-I),能降低GnRH诱导的血浆LH的升高水平^[2]。T. Ubuka等研究表明,白冠雀和鹌鹑腹内注射GnIH后,LH浓度降低,鹌鹑LH α 、LH β 和FSH α 亚单位的mRNA表达量显著减少^[11]。因此推测,GnIH可以通过直接或间接作用抑制促卵泡激素(FSH)和促黄体激素(LH)的合成与释放,继而影响雌激素的合成。这些激素共同作用影响生殖器官的发育,进而对蛋鸡的产蛋水平产生影响。

近年来,有关GnIH及其受体GPR147的研究主要停留在神经内分泌调控上,对鸡GPR147基因5'调控区多态性及其与产蛋性状关系的研究还未见报道。本研究以寿光鸡为试验材料,研究其GPR147基因5'调控区的SNPs,并与产蛋性状进行关联分析,为地方鸡产蛋性状分子标记辅助选择提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试验动物 本试验鸡群来自山东寿光慈伦大鸡养殖场,选取有完整的开产日龄及每日产蛋情况记录的样本432只。所有参试鸡群单笼饲养,饲养管理条件相同。

1.1.2 主要试剂 PJET1.2 Vector、DNA凝胶回收试剂盒购自天根生化科技有限公司,感受态细胞*E. coli* DH5 α 、PrimerSTAR HS DNA Polymerase购自TaKaRa公司。

1.2 DNA 提取

50周龄时经翅静脉采血后,根据血液基因组

DNA提取试剂盒说明书提取DNA。用紫外分光光度计和1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的浓度与纯度,于-20℃保存。

1.3 引物设计

根据GenBank上发表的鸡GPR147基因序列(登录号:NC_006093.3),在5'侧翼序列设计引物。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列:正向引物(F):5'-GCTGCTACTGTACCTGAGG-3';反向引物(R):5'-GGAGAAACCGCAATGAAAGGAG-3'。

1.4 PCR 扩增和 SNPs 位点检测

根据产蛋记录,选取30个产蛋性状差异较大个体的DNA样品,混池后进行PCR扩增。PCR反应条件:94℃预变性5min;98℃变性10s,63.5℃退火15s,72℃延伸1min,35个循环;72℃延伸10min;4℃保存。

PCR产物经琼脂糖凝胶电泳检测后,用DNA凝胶回收试剂盒回收,并与PJET1.2 Vector连接。将连接产物转化至感受态细胞*E. coli* DH5 α ,通过菌液PCR鉴定阳性克隆,将阳性克隆菌送至北京华大基因有限公司进行测序,检测多态性位点。用TFSEARCH在线软件预测可能的转录因子结合位点(可能性大于85%)。

1.5 多态性位点的群体检测与基因分型

每个个体PCR扩增GPR147基因5'调控区序列,PCR产物直接送北京华大基因有限公司测序,检测其多态位点基因型。

1.6 数据 处 理

根据产蛋率是否高于60%,将产蛋期分为前期(20~25周龄)、中期(26~44周龄)和后期(45~56周龄)3个阶段,统计各阶段每只鸡产蛋数,300天产蛋数及产蛋全期总产蛋数。

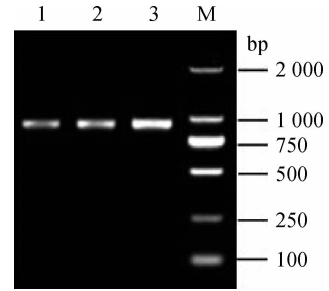
用R软件的Genetics程序包来计算分析各个多态位点的群体遗传学特征。用SAS8.2软件包的GLM程序将不同多态位点及其单倍型与产蛋性状进行关联分析,统计模型: $Y_{ij} = \mu + G_i + e_{ij}$,其中, Y_{ij} 为性状表型值, μ 为该性状的总体均值, G_i 为基因型效应值, e_{ij} 为随机残差效应^[12]。计算基因的加性效应、显性效应,并进行t检验分析。用PHASE软件(V2.0)估计每个个体多态位点的单倍型。

2 结果

2.1 GPR147 基因的多态性

混池模板 PCR 扩增后,用 1%琼脂糖凝胶电泳检测,结果如图 1 所示,片段大小与 911 bp 相符,特异性好。单克隆测序结果发现,寿光鸡 GPR147 基因 5' 调控区有 11 个 SNP 位点: -660(G→A)、-602(C→T)、-593(T→C)、-579(A→G)、-562(C→A)、-523(T→G)、-516(A→G)、-489(A→G)、-435(C→T)、-427(T→G/C)、-357(G→C/A)。根据测序结果可以判断个体基因型,单峰为纯

合子,双峰为杂合子^[13](图 2)。



M. DNA 相对分子质量标准;1~3. 混池模板
M. DNA marker;1-3. Mixed pool of templates

图 1 GPR147 基因 5' 调控区 PCR 扩增

Fig.1 The PCR products of 5' regulatory region of GPR147

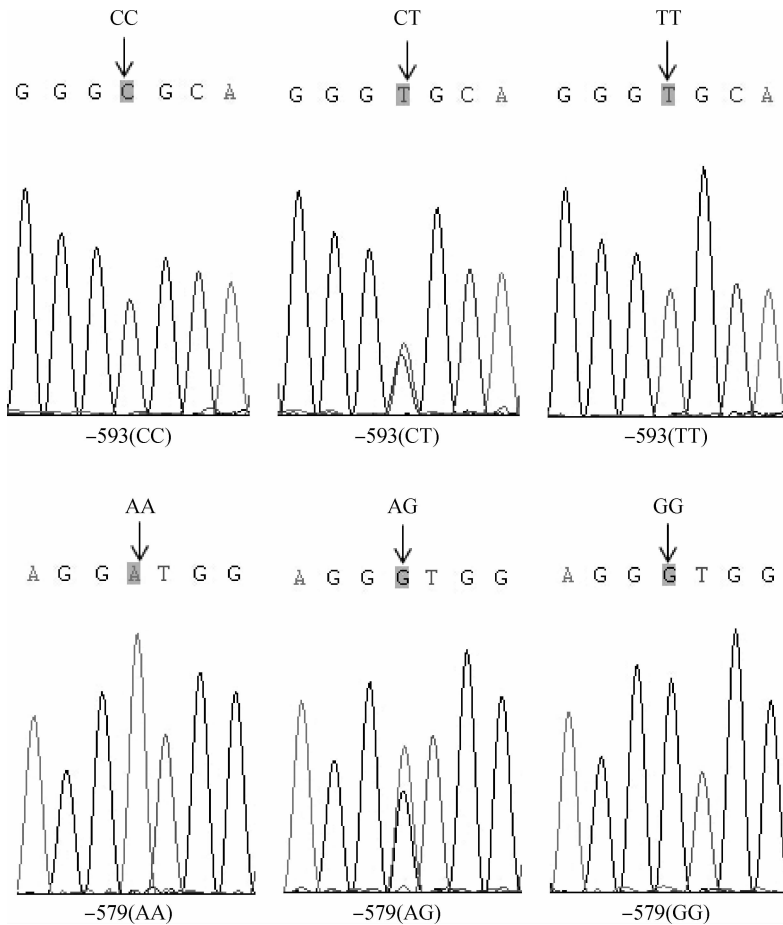


图 2 GPR147 基因 5' 调控区 -593 和 -579 位点直接测序图

Fig.2 Sequencing maps of -593 and -579 loci in 5' regulatory region of GPR147

各位点用 TFSEARCH 在线软件预测,发现突变后 -660 位点失去 CDP CR 转录因子结合位点(得分为 88.1),-602 位点失去 USF 转录因子结合位点(得分为 86.6),-579 位点失去 GATA-1(得分为 91.0)和 GATA-2(得分为 90.9)转录因子结合位

点,-562、-489 位点失去 MZF1(得分分别为 89.6、85.2)转录因子结合位点,-427 位点失去 RORαp 转录因子结合位点(得分为 87.5)。其余位点碱基突变后,转录因子结合位点没有变化,其中 -593 位点的转录因子结合位点为 GATA-1(得分

为 98.4)和 GATA-2(得分为 87.0)。

2.2 *GPR147* 基因 5'调控区 SNPs 位点在寿光鸡群体中的分布

GPR147 基因 5'调控区 SNPs 位点群体遗传学分析结果见表 1。 χ^2 检验表明, -602、-562、-523 三个多态位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P >$

0.05),其余位点未达到 Hardy-Weinberg 平衡状态($P < 0.05$)。-660、-593、-579 位点的多态信息含量分别为 0.25、0.27 和 0.26,呈中度多态($0.25 \leq PIC < 0.5$),其余位点均呈低度多态($PIC < 0.25$)^[14]。

表 1 *GPR147* 基因 5'调控区 SNPs 位点的群体遗传学分析结果

Table1 The results of population genetic analysis on SNPs in 5'UTR of *GPR147*

位点 Loci	基因型(个体数) Genotype (Number)	基因型频率 Genotype frequency	等位 基因 Allele	等位基因频率 Allele frequency	χ^2 值(P 值) χ^2 value (P value)	杂合度 H_e	有效等位 基因数 N_e	多态 信息含量 PIC
-660	GG(322)	0.75	G	0.82	107.12 (9.999e-05)	0.29	1.41	0.25
	AG(63)	0.15		0.18				
	AA(45)	0.10	A					
-602	CC(420)	0.98	C	0.99	0.06	0.02	1.02	0.02
	CT(10)	0.02	T	0.01	(1)			
-593	TT(317)	0.74	T	0.80	158.72 (9.999e-05)	0.32	1.47	0.27
	CT(54)	0.13		0.20				
	CC(59)	0.14	C					
-579	AA(317)	0.74	A	0.81	113.27 (9.999e-05)	0.31	1.44	0.26
	AG(64)	0.15		0.19				
	GG(49)	0.11	G					
-562	CC(420)	0.98	C	0.99	0.06	0.02	1.02	0.02
	AC(10)	0.02	A	0.01	(1)			
-523	TT(420)	0.98	T	0.99	0.06	0.02	1.02	0.02
	TG(10)	0.02	G	0.01	(1)			
-516	AA(349)	0.81	A	0.88	33.92 (9.999e-05)	0.20	1.25	0.18
	AG(63)	0.15		0.12				
	GG(18)	0.04	G					
-489	AA(349)	0.81	A	0.88	33.92 (9.999e-05)	0.20	1.25	0.18
	AG(63)	0.15		0.12				
	GG(18)	0.04	G					
-435	CC(425)	0.99	C	0.99	338.86 (9.999e-05)	0.02	1.02	0.02
	CT(1)	0.00		0.01				
	TT(4)	0.01	T					
-427	TT(349)	0.81	T	0.88	49.07 (0.0024)	0.21	1.27	0.19
	TG(53)	0.12		0.10				
	CT(10)	0.02	G	0.01				
	GG(18)	0.04	C					
-357	GG(349)	0.81	G	0.88	49.07 (0.0022)	0.21	1.27	0.19
	CG(53)	0.12		0.10				
	AG(10)	0.02	C	0.01				
	CC(18)	0.04	A					

用 SHEsis 软件分析各位点间的连锁关系,发现 -602、-562、-523 三个位点完全连锁($D' = 1$, $r^2 = 1$)^[14], -516、-489 两个位点完全连锁($D' = 1$, $r^2 = 1$), -593 和 -579 位点不完全连锁($D' = 1$, $r^2 = 0.928$)。

2.3 单位点多态性与寿光鸡产蛋性状的关联分析

对寿光鸡群体 *GPR147* 基因 -593 和 -579 两个多态位点的单位点与产蛋性状进行关联分析,结果见表 2。由表 2 可知, -593 和 -579 位点的不同基因型在后期产蛋量和 56 周总产蛋数有显著差异($P < 0.05$)。在 -593 位点, TT 型个体后期产蛋数比 CC 型多 4.3 枚, 比 CT 型多 4.7 枚; TT 型个体

56 周产蛋数比 CC 型多 6.1 枚, 比 CT 型多 6.5 枚。等位基因 T 与 C 相比能使鸡后期产蛋数增加 2.2 枚, 56 周产蛋总数增加 3.0 枚。-579 位点 AA 基因型对应较高产蛋数, AA 型个体后期产蛋数比 AG 型多 4.1 枚, 比 GG 型多 5.1 枚; 56 周产蛋数 AA 型个体比 AG 型多 4.4 枚, 比 GG 型多 8.8 枚; 等位基因 A 与等位基因 G 相比能使鸡的中期产蛋量增加 1.5 枚, 后期产蛋数增加 2.5 枚, 56 周产蛋总数增加 4.4 枚。

其余低度多态位点, 由于基因型频率差别太大, 分析结果没有代表性, 因此未作关联分析。

表 2 不同位点基因型对产蛋性状的最小二乘均数及等位基因的遗传效应

Table 2 Least squares means and allele genetic effects for laying traits at each locus

位点 Loci	基因型 Genotype	个体数 Number	开产日龄 Age at first laying	前期产蛋数 Egg number from 20 to 25 weeks of age	中期产蛋数 Egg number from 26 to 44 weeks of age	后期产蛋数 Egg number from 45 to 56 weeks of age	300 天产蛋数 Egg number at 300 days	产蛋总数 Egg number until 56 weeks of age
-593	CC	59	159.9	10.1	96.9	39.5 ^A	102.1	146.5
	CT	54	163.0	8.9	98.1	39.1 ^A	102.1	146.1
	TT	317	160.8	10.4	98.4	43.8 ^B	103.5	152.6
	<i>P</i> 值		0.279 0	0.399 3	0.564 4	0.028 7*	0.595 4	0.049 6*
	AE		-0.5	-0.1	-0.7	-2.2*	-0.7	-3.0
	(<i>P</i> 值)		(0.550 6)	(0.778 6)	(0.285 3)	(0.048 1)	(0.436 2)	(0.064 6)
	DE		2.6	-1.3	0.5	-2.5	-0.7	-3.4
(<i>P</i> 值)		(0.110 9)	(0.242 9)	(0.756 6)	(0.281 9)	(0.707 6)	(0.343 8)	
-579	AA	317	160.8	10.4	98.4 ^{AB}	43.8 ^A	103.5	152.6 ^A
	AG	64	162.6	9.3	99.1 ^A	39.7 ^{AB}	103.4	148.2 ^{AB}
	GG	49	159.7	9.8	95.4 ^B	38.7 ^B	100.3	143.8 ^B
	<i>P</i> 值		0.317 9	0.545 8	0.085 0	0.027 2*	0.254 3	0.030 3*
	AE		0.5	0.3	1.5*	2.5*	1.6	4.4*
	(<i>P</i> 值)		(0.507 1)	(0.586 8)	(0.041 2)	(0.031 9)	(0.101 1)	(0.014 5)
	DE		2.4	-0.7	2.3	-1.5	1.5	0.02
(<i>P</i> 值)		(0.131 0)	(0.499 4)	(0.112 2)	(0.499 9)	(0.407 0)	(0.995 8)	

$P < 0.05$ 表示该位点在该性状不同基因型之间差异显著; 同一位点同一列标有不同字母的两均数间差异显著 ($P < 0.05$)。

*. $P < 0.05$; ** . $P < 0.01$. AE 为加性效应的缩写; DE 为显性效应的缩写。下表同

$P < 0.05$ indicates that different genotypes at this locus differ significantly in this trait. Value within the same column at the same locus with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$). *. $P < 0.05$; ** . $P < 0.01$. AE. Additive effect; DE. Dominant effect. The same as below

2.4 多位点联合基因型及单倍型对寿光鸡产蛋性能的效应分析

在该群体中, -593 和 -579 位点有 4 种联合基因型: TA/TA、TA/CG、CA/CG、CG/CG, 其中

CA/CG 型只有 10 个个体, 频率低于 5%, 因此不作分析。对其他 3 种联合基因型与产蛋性状进行关联分析, 结果见表 3。由表 3 可知, -593、-579 位点不同联合基因型对后期产蛋数和 56 周总产蛋量有

显著影响($P < 0.05$),表现为后期产蛋数 TA/TA 型比 TA/CG 型多 4.7 枚,比 CG/CG 多 5.1 枚,总产蛋数 TA/TA 型比 TA/CG 型多 6.5 枚,比 CG/CG 多 8.8 枚。加性效应及显性效应分析结果发

现,单倍型 TA 与单倍型 CG 相比,中期产蛋量多 1.5 枚($P = 0.0418$),后期产蛋量多 2.5 枚($P = 0.0326$),300 天产蛋量多 1.6 枚($P = 0.1$),56 周总产蛋量多 4.4 枚($P = 0.0144$)。

表 3 两个位点联合基因型的最小二乘均数及单倍型的遗传效应

Table 3 Least squares means by combined genotypes and haplotype genetic effects

联合基因型 Combined genotype	个体数 Number	开产日龄 Age at first laying	前期产蛋数 Egg number from 20 to 25 weeks of age	中期产蛋数 Egg number from 26 to 44 weeks of age	后期产蛋数 Egg number from 45 to 56 weeks of age	300 天产蛋数 Egg number at 300 days	产蛋总数 Egg number until 56 weeks of age
TA/TA	317	160.8	10.4	98.4	43.8 ^A	103.5	152.6 ^A
TA/CG	54	163	8.9	98.1	39.1 ^{AB}	102.1	146.1 ^{AB}
CG/CG	49	159.7	9.8	95.4	38.7 ^B	100.3	143.8 ^B
<i>P</i> 值		0.2656	0.3688	0.1252	0.021*	0.2227	0.0152*
AE		0.5	0.3	1.5*	2.5*	1.6**	4.4*
(<i>P</i> 值)		(0.5057)	(0.5830)	(0.0418)	(0.0326)	(0.1)	(0.0144)
DE		2.7	-1.1	1.2	-2.2	0.2	-2.1
(<i>P</i> 值)		(0.1041)	(0.3092)	(0.4116)	(0.3702)	(0.9333)	(0.5704)

3 讨论

本研究在寿光鸡 GPR147 基因 5'调控区发现了 11 个 SNPs 位点,其中 3 个为中度多态,8 个为低度多态,并且哈代温伯格平衡检验发现只有 3 个位点处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P > 0.05$),原因可能与该群体的育种措施造成的偏离有关。在群体中发现,-602、-562、-523 位点只有两种基因型,可能是该群体的人工选择造成的。

本研究发现,-579 位点多态性对 56 周产蛋量和后期产蛋量有显著影响($P < 0.05$)。TFSEARCH 在线软件预测发现,-579 位点由碱基 A 突变成碱基 G 后,失去 GATA-1(得分为 91.0)和 GATA-2(得分为 90.9)转录因子结合位点。哺乳动物研究表明,GATA 家族对类固醇发生、性别决定和分化等过程有着不可或缺的作用^[15]。小鼠 GATA-2 基因通过与 PIT1 相互作用,调节生长激素细胞、催乳素细胞、促性腺激素细胞和促甲状腺激素细胞的生成,并能降低促性腺激素细胞中 LH β 的表达^[16-19]。因此 -579 位点很可能是因为失去 GATA-1 和 GATA-2 转录因子结合位点影响了基因表达。-593 位点由碱基 T 突变成 C,转录因子结合位点没有变化,为 GATA-1(得分为 98.4)和 GATA-2(得分为 87.0),其多态性对产蛋性状的影响可能是

通过转录因子结合方式的改变或与其他位点(比如 -579 位点)连锁造成的。

单位点多态性分析,-593 位点等位基因 T 与 C 相比能使鸡后期产蛋数增加 2.2 枚,56 周产蛋总数增加 3.0 枚。-579 位点等位基因 A 与 G 相比能使鸡的中期产蛋量增加 1.5 枚,后期产蛋数增加 2.5 枚,56 周产蛋总数增加 4.4 枚。单倍型分析发现,单倍型 TA 与单倍型 CG 相比,中期产蛋量多 1.5 枚,后期产蛋量多 2.5 枚,56 周总产蛋量多 4.4 枚。由此可以看出单倍型加性效应与 -579 位点的加性效应相同,进一步可以推测单倍型效应可能主要是 -579 位点的作用,-593 位点的效应是连锁作用的结果。

4 结论

寿光鸡 GPR147 基因 5'调控区 -593 和 -579 位点的多态性对产蛋数有影响,单倍型 TA 个体拥有相对较高的中期产蛋数、后期产蛋数、300 天产蛋量以及 56 周总产蛋量。因此,单倍型 TA 是具有潜在应用价值的分子遗传标记,可为寿光鸡产蛋性状的标记辅助选择提供依据。

参考文献(References):

[1] TSUTSUI K, SAIGOH E, UKENA K, et al. A novel

- avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275(2):661-667.
- [2] OSUGI T, UKENA K, BENTLEY G E, et al. Gonadotropin-inhibitory hormone in Gambel's white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*): cDNA identification, transcript localization and functional effects in laboratory and field experiments[J]. *J Endocrinol*, 2004, 182(1):33-42.
- [3] UKENA K, UBUKA T, TSUTSUI K. Distribution of a novel avian gonadotropin-inhibitory hormone in the quail brain[J]. *Cell Tissue Res*, 2003, 312(1):73-79.
- [4] UBUKA T, KIM S, HUANG Y C, et al. Gonadotropin-inhibitory hormone neurons interact directly with gonadotropin-releasing hormone-I and -II neurons in European starling brain[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(1):268-278.
- [5] KRIEGSFELD L J, MEI D F, BENTLEY G E, et al. Identification and characterization of a gonadotropin-inhibitory system in the brains of mammals[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(7):2410-2415.
- [6] BENTLEY G E, TSUTSUI K, KRIEGSFELD L J. Recent studies of gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) in the mammalian hypothalamus, pituitary and gonads[J]. *Brain Res*, 2010, 1364:62-71.
- [7] CALISI R M, RIZZO N O, BENTLEY G E. Seasonal differences in hypothalamic EGR-1 and GnIH expression following capture-handling stress in house sparrows (*Passer domesticus*) [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2008, 157(3):283-287.
- [8] IKEMOTO T, PARK M K. Chicken RFamide-related peptide (GnIH) and two distinct receptor subtypes: identification, molecular characterization, and evolutionary considerations [J]. *J Reprod Dev*, 2005, 51(3):359-377.
- [9] BONINI J A, JONES K A, ADHAM N, et al. Identification and characterization of two G protein-coupled receptors for neuropeptide FF [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(50):39324-39331.
- [10] HINUMA S, SHINTANI Y, FUKUSUMI S, et al. New neuropeptides containing carboxy-terminal RFamide and their receptor in mammals [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(10):703-708.
- [11] UBUKA T, UKENA K, SHARP P J, et al. Gonadotropin-inhibitory hormone inhibits gonadal development and maintenance by decreasing gonadotropin synthesis and release in male quail [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(3):1187-1194.
- [12] 赵雪丹, 王慧, 康丽, 等. 褪黑激素受体 MTNR1B 5'调控区多态及其与鸡产蛋性状的关联分析 [J]. 中国兽医学报, 2014(11):1855-1860.
- ZHAO X D, WANG H, KANG L, et al. Polymorphisms of the 5' regulatory region of melatonin receptor gene MTNR1B and their correlations with laying traits in chickens [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2014(11):1855-1860. (in Chinese)
- [13] 宋倩, 王慧, 康丽, 等. 寿光鸡褪黑素受体基因 (MTNR1A) 5'控区多态性与产蛋性状的关联分析 [J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(5):579-587.
- SONG Q, WANG H, KANG L, et al. Polymorphisms of the 5' regulatory region of melatonin receptor gene (MTNR1A) and their associations with laying traits in Shouguang chickens (*Gallus gallus*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2013, 21(5):579-587. (in Chinese)
- [14] 贾祥捷, 王长法, 杨桂文, 等. 中国荷斯坦牛 POU1F1 基因与 PRL 基因的多态性及其聚合效应对产奶性状的影响 [J]. 遗传, 2011, 33(12):1359-1365.
- JIA X J, WANG C F, YANG G W, et al. Polymorphism of POU1F1 gene and PRL gene and their combined effects on milk performance traits in Chinese Holstein cattle [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2011, 33(12):1359-1365. (in Chinese)
- [15] 叶凯. 尼罗罗非鱼 GATA 因子表达及其功能的初步研究 [D]. 重庆:西南大学, 2012.
- YE K. Preliminary studies on expression patterns and functional analysis of GATA factors in Nile tilapia [D]. Chongqing: Southwest University, 2012. (in Chinese)
- [16] DASEN J S, O'CONNELL S M, FLYNN S E, et al. Reciprocal interactions of Pit1 and GATA2 mediate signaling gradient-induced determination of pituitary cell types [J]. *Cell*, 1999, 97(5):587-598.
- [17] GORDON D F, WOODMANSEE W W, BLACK J N, et al. Domains of Pit-1 required for transcriptional synergy with GATA-2 on the TSH beta gene [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2002, 196(1-2):53-66.
- [18] ROSENFELD M G, BRIATA P, DASEN J, et al. Multistep signaling and transcriptional requirements for pituitary organogenesis *in vivo* [J]. *Recent Prog Horm Res*, 2000, 55:1-14.
- [19] 张未丽, 刘智皓, 吴风瑞, 等. 转录因子 GATA-2 在脊椎动物发育过程中的作用 [J]. 四川动物, 2009, 28(6):945-948.
- ZHANG W L, LIU Z H, WU F R, et al. Role of the GATA-2 transcription factor in vertebrates during development [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2009, 28(6):945-948. (in Chinese)