

猪 H-FABP 基因 PCR-RFLP 分子标记研究*

庞卫军¹, 杨公社¹, 曹景峰², 龙火生¹, 向 钊¹, 张保军¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2 铜川市郊区防疫监督管理站, 陕西 铜川 727007)

[摘 要] 利用 PCR-RFLP (*Hinf* I、*Hae* III 和 *Msp* I 3 种限制性内切酶) 分子标记技术, 检测了杜洛克猪、长白猪、大白猪、内江猪、荣昌猪、汉江黑猪、汉白猪、八眉猪和野猪等 8 个猪种, 共计 265 头猪心脏脂肪酸结合蛋白基因 5'上游区和第二内含子区的遗传变异。结果表明, 在 *Hinf* I-RFLP 位点上, 上述猪种和野猪均存在多态性, 等位基因 H 的频率分别为 0.750 0, 0.718 8, 0.916 7, 0.333 3, 0.125 0, 0.690 9, 0.116 7, 0.850 0 和 0.937 5; 除汉江黑猪 ($P < 0.05$) 和野猪 ($P < 0.01$) 外, 其余猪种的基因频率和基因型频率都处于 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P > 0.05$); 大白猪、八眉猪、汉江黑猪、汉白猪和野猪表现为低度多态性 ($P_{IC} < 0.25$), 杜洛克猪、长白猪、内江猪和荣昌猪为中度多态性 ($0.25 < P_{IC} < 0.5$); 而在 *Hae* III-RFLP 和 *Msp* I-RFLP 位点上, 仅内江猪、荣昌猪、汉江黑猪和八眉猪为单态。

[关键词] 猪; H-FABP 基因; PCR-RFLP; 分子标记; 遗传变异

[中图分类号] S828.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)07-0011-05

猪肌肉脂肪 (Intramuscular fat, MF) 含量是猪肉品质的重要性状之一, 因为其与肉品的风味、多汁性、嫩度密切相关^[1,2]。经国内外育种专家的多年努力, 猪的瘦肉率逐渐提高, 目前瘦肉率平均达 60% 以上, 最高可达 72%。但随着猪瘦肉率的提高, 猪肉的品质却呈下降趋势。研究^[2]表明, 猪 MF 含量的下降是造成肉品质量下降的主要原因。现已证明, 在保证瘦肉率的前提下, 提高 MF 含量, 改善猪肉品质是可行的^[3,4]。我国地方猪种肉质优于引入品种, 这与猪 MF 含量有直接关系。地方品种猪 MF 含量都在 3% 以上, 高者可达 6%~7%, 而引入种猪的 MF 一般低于 3%^[5]。因对猪活体 MF 含量的准确测定比较困难, 即使是对肌肉样进行测定, 也必须在猪达到一定的体重后方可屠宰取样, 这样既浪费时间又浪费资金。再者, 传统方法对猪 MF 的选育存在盲目性, 且周期较长。因此, 寻找影响 MF 含量的数量性状位点 (QTL) 主效基因成为人们广泛关注的焦点。国外育种专家研究发现^[6~9], 猪心脏脂肪酸结合蛋白 (Heart fatty acid-binding protein, H-FABP) 基因是 MF 的候选基因, 因此, 研究 H-FABP 基因的遗传变异对猪肉品质改善具有重

要的实际意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验采用 8 个猪种和野猪共 265 头作为试验动物, 其中杜洛克猪 (DU) 30 头、长白猪 (CH) 32 头、大白猪 (DA) 30 头、内江猪 (NE) 30 头、荣昌猪 (RO) 55 头、汉江黑猪 (HH) 30 头、汉白猪 (HB) 30 头、八眉猪 (BA) 20 头、野猪 (YZ) 8 头。每头猪采血样 5 mL, 用质量分数 2%~3% 肝素钠抗凝, 再取耳组织 0.5 g, 放入盛有体积分数 70% 乙醇的冻存管中, 血样和耳组织样均装于冰瓶内带回。

1.2 试验方法

1.2.1 猪基因组 DNA 的提取 参考文献 [10, 11], 按常规方法分别从血液和组织中提取 DNA。

1.2.2 PCR 扩增 引物参照文献 [3], 由北京鼎国公司合成, 引物序列、PCR 产物大小及扩增区域见表 1。

扩增体系为: DNA 模板约 50 ng, P_1 或 P_2 为 10 pmol, dNTPs 为 200 μ mol/L, $MgCl_2$ 1.5 mmol/L, Taq DNA 聚合酶 1.25 U, 加去离子四蒸水 (dH₂O)

* [收稿日期] 2003-06-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (200168572)

[作者简介] 庞卫军 (1972-), 男, 陕西镇巴人, 硕士, 主要从事猪的分子育种研究。

[通讯作者] 杨公社 (1959-), 男, 陕西富平人, 教授, 博士生导师, 主要从事猪的遗传育种研究。E-mail: gongshe-yang@163.com

补至 25 μL 。扩增条件: 预变性 94 $^{\circ}\text{C}$ 3 min; 进入环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。
循环 94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 62 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 32 个循

表 1 PCR-RFLP 分析的引物序列、PCR 产物大小和位置

Table 1 Primer sequences, corresponding PCR product size and position for each PCR-RFLP

PCR-RFLP	引物 Primer	PCR 产物大小/bp PCR product size	PCR 产物位置 PCR product position
<i>H inf I</i>	P1: 5' GGACCCAA GATGCTACGCCG-3' 5' CTGCA GCTTTGACCAA GAGG-3'	693	1 125~1 818(A) ¹
<i>H ea III, M sp I</i>	P2: 5' ATTGCTTCGGTGTGTTTGA G-3' 5' TCAGGAATGGGAGTTATTGG~3'	816	1 401~2 217(B) ²

注: 1. 扩增序列见 GenBank 上 X98558; 2. 扩增序列见 GenBank 上 Y16180。

Note: 1. PCR sequence see X98558 of GeneBank; 2. PCR sequence see Y16180 of GeneBank

1.2.3 限制性内切酶酶切 *H inf I*, *H ae III* 和 *M sp I* 酶(MBI, USA) 分别酶切 693 和 816 bp 的扩增产物, 酶切体系均为 20 μL , 其中扩增产物为 15 μL , 限制性内切酶为 4 U, 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 6 h。酶切产物用质量分数 2% 的琼脂糖凝胶电泳分析。

1.3 统计分析方法

1.3.1 基因频率和基因型频率的计算 基因频率是指一个群体中某一基因对等位基因的相对比率。其计算公式为: $P_i = [2(ii) + (ij_1) + (ij_2) + \dots + (ij_{n-1}) + (ij_n)]/2n$, 其中 P_i 为第 i 个等位基因的频率; i 为纯合的复等位基因; $j_1, j_2, \dots, j_n$ 为与 i 共显的第 1 到第 n 个等位基因。

基因型频率是指一个群体中某一性状的各种基因型之间的比率。因为 PCR-RFLP 方法的检测结果为共显性等位基因, 因此表型频率等于基因型频率。其计算公式为: 基因型频率 = 基因型个体数/测定群体总数。

1.3.2 基因频率和基因型频率的差异显著性检验 (χ^2 独立性检验) 首先根据基因频率计算各种基因型频率的理论值, 然后计算 χ^2 值。因为本研究资料的自由度 $df = 1$, 某些基因型理论值小于 5, 故采用矫正公式:

$$\chi^2 = \sum \frac{(|O_i - E_i| - 0.5)^2}{E_i}$$

式中, E_i 为理论值; O_i 为实际观察值, n 为等位基因

数。

1.3.3 H-FABP 基因多态信息含量(PIC)的计算

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n (P_i)^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2P_i^2 P_j^2,$$

式中, P_j 为第 j 个等位基因的频率。 PIC 用于对标记基因多态性的估计, $PIC > 0.5$ 为高度多态, $PIC < 0.25$ 为低度多态, $0.25 < PIC < 0.5$ 为中度多态。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增检测

部分个体 PCR 扩增结果见图 1。其中 Marker 为 SD004 (购至北京鼎国公司), 1~4 为 693 bp 的 PCR 产物, 5~8 为 816 bp 的 PCR 产物。由图 1 可见, 电泳图谱条带清晰, 无杂带。

2.2 *H inf I* 酶切结果

根据 Genbank X98558 序列, PCR 所扩增的 H-FABP 基因片段长度为 693 bp, 共有 4 个 *H inf I* 酶切位点, 产生 339, 172, 98, 59, 25 bp 5 个片段, 其中第 1 321 bp 处为多态性酶切位点, 当此酶切位点因变异而消失时, 172 和 59 bp 片段合并产生 231 bp 的片段, 定义等位基因为 H (339+ 172+ 98+ 59+ 25bp) 和 h (339+ 231+ 98+ 25 bp)。部分个体基因组 PCR 所扩增的 H-FABP 基因片段 *H inf I* 酶切结果见图 2。

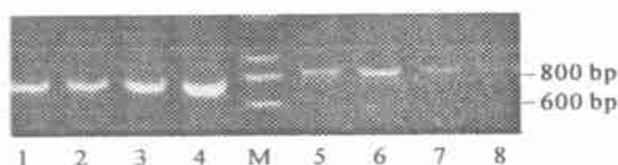


图 1 PCR 产物图谱

Fig 1 A grose gel image of PCR production

1- 4 693 bp; 5- 8 816 bp; M: PCR marker

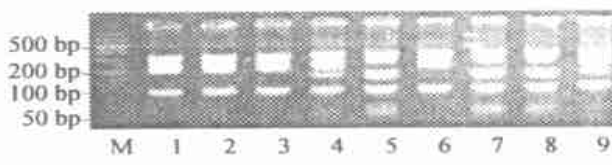


图 2 *H inf I* 酶切 693 bp PCR 产物的琼脂凝胶电泳图谱

Fig 2 A grose gel image of digested 693 bp

PCR production with *H inf I*

M: Marker; 1- 3, 6 hh; 4, 9 Hh; 5, 7, 8 HH

2 3 *Hae* III 酶切结果

根据 GenBank Y16180 序列, PCR 所扩增的 H-FABP 基因片段长度为 816 bp, 存在 3 个 *Hae* III 酶切位点, 产生 405, 278, 117, 16 bp 4 个片段, 其中第 1 811 bp 处系多态性酶切位点, 当此酶切位点因变异而消失时, 278 和 405 bp 片段合并产生 683 bp 的片段, 定义等位基因为 D (405+ 278+ 117+ 16 bp), d (683+ 117+ 16 bp)。结果如图 3 所示。

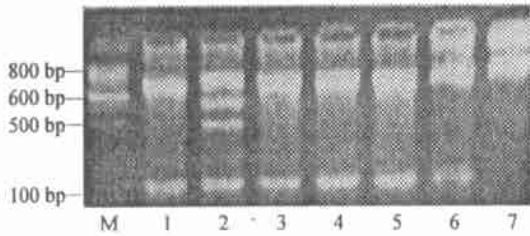


图 3 *Hae* III 酶切 816 bp PCR 产物的琼脂凝胶电泳图谱

M. Marker; 1, 3~6. dd; 2. Dd; 7. PCR 产物
Fig. 3 Agrose gel image of digested 816 bp PCR production with *Hae* III
M. Marker; 1, 3~6. dd; 2. Dd; 7. PCR product

2 5 不同猪种及野猪 H-FABP 基因的基因型分布和基因频率

根据琼脂糖凝胶电泳结果, 分别将 8 个品种猪及野猪的等位基因频率及基因型分布频率进行统计, 其结果见表 2。由表 2 可见, 各猪种和野猪在 *Hinf* I 酶切位点均存在多态性, 等位基因 H 的频率

2 4 *Msp* I 酶切结果

GenBank X 16180 序列 PCR 扩增片段还存在 *Msp* I 酶切位点, 产生 750, 66 bp 2 个片段, 其中在 1 878 处为多态性酶切位点, 当此酶切位点因变异而消失时, 750 和 66 bp 片段合并产生 816 bp 的片段。定义等位基因为 A (750+ 66 bp), a (816 bp)。结果见图 4, 其中 M 为 Φ X174 *Hae* III digest DNA Marker, 购自宝生物工程(大连)有限公司。

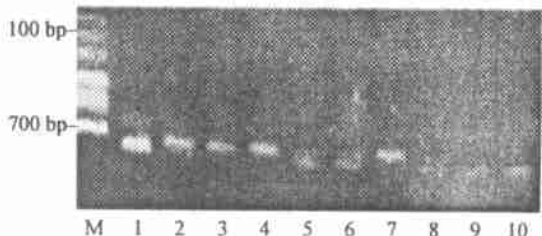


图 4 *Msp* I 酶切 816 bp PCR 产物的琼脂凝胶电泳图谱

M. Marker; 1. PCR 产物; 2~4, 7. AA; 5, 6, 8, 9. Aa; 10. aa
Fig. 4 Agrose gel image of digested 816 bp PCR production with *Msp* I
M. Marker; 1. PCR product; 2~4, 7. AA; 5, 6, 8, 9. Aa; 10. aa

存在差异 ($P < 0.05$); 内江猪、八眉猪、荣昌猪和汉江黑猪在 *Hae* III-RFLP 和 *Msp* I-RFLP 位点上表现为单态, 基因型全为 DD 和 AA 型; 杜洛克猪、长白猪、大白猪、汉中南猪及野猪的 D 和 A 基因频率存在差异 ($P < 0.05$)。

表 2 不同猪种和野猪 H-FABP 基因 PCR-RFLP 基因型分布和基因频率

Table 2 Genotypes distribution and alleles frequency of H-FABP PCR-RFLP in different pig breeds and wild pig

品种 代码 Breed code	头数 Number	<i>Hinf</i> I-RFLP				<i>Hae</i> III-RFLP				<i>Msp</i> I-RFLP			
		基因型分布 Genotype distribution		基因频率 Gene frequency		基因型分布 Genotype distribution		基因频率 Gene frequency		基因型分布 Genotype distribution		基因频率 Gene frequency	
		HH	Hh	hh	H	DD	Dd	dd	D	AA	Aa	aa	A
U	30	17	11	2	0.7500 a	12	13	5	0.6167 a	10	6	14	0.4333 c
CH	32	17	12	4	0.7188 a	6	9	17	0.3281 b	27	5	0	0.9219 a
DA	30	26	3	1	0.9167 b	5	10	15	0.3333 b	24	4	2	0.8667 a
NE	30	2	16	12	0.3333 d	30	0	0	1.0000 c	30	0	0	1.0000 d
BA	20	1	3	16	0.1250 c	30	0	0	1.0000 c	20	0	0	1.0000 d
RO	55	28	20	7	0.6909 a	55	0	0	1.0000 c	55	0	0	1.0000 d
HH	30	2	3	25	0.1167 c	30	0	0	1.0000 c	30	0	0	1.0000 d
HB	30	23	5	2	0.8500 b	12	12	6	0.6000 a	14	10	6	0.6333 b
YZ	8	7	1	0	0.9375 b	0	2	6	0.1250 c	6	2	0	0.8750 a

注: 各基因频率列数值后标不同字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Data with different letters in the same row differ significantly at $P < 0.05$

2 6 不同猪种和野猪 PCR-RFLPs 的 Hardy-Weinberg 平衡状态检测

各猪种基因频率及基因型频率 Hardy-Weinberg 平衡状态的检测结果见表 3。除在 *Hinf* I-RFLP 位点的汉江黑猪 ($P < 0.05$) 和野猪 ($P <$

0.01) 及在 *Msp* I-RFLP 位点的杜洛克猪 ($P < 0.01$), 其基因频率和基因型频率处于不平衡状态外, 其余猪种在两位点上的基因频率及基因型频率均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态 ($P > 0.05$)。在 *Hae* III-RFLP 位点上, 各猪种及野猪的基因频率及

基因型频率均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P > 0.05$)。

表 3 不同猪种和野猪 PCR-RFLP Hardy-Weinberg 平衡状态的检测

Table 3 Equilibrium analysis of Hardy-Weinberg for PCR-RFLP in different pig breeds and wild pig

品种 Breeds	数量 Number	Chi-square (χ^2 值 χ^2 value)		
		<i>H inf I</i> -RFLP	<i>H aeIII</i> -RFLP	<i>M sp I</i> -RFLP
DU	30	0.088 9	0.157 8	7.702 5**
CH	32	0.386 2	3.068 2	0.481 7
DA	30	0.668 0	1.112 5	2.648 0
NE	30	0.612 5	0.008 3	0.008 3
BA	20	0.289 8	0.012 5	0.012 5
RO	55	0.735 0	0.004 5	0.004 5
HH	30	4.131 6*	0.008 3	0.008 3
HB	30	1.643 9	0.806 8	1.558 2
YZ	8	7.254 0**	1.085 5	1.185 5

注: $df = 1$, $\chi^2_{0.05(1)} = 3.84$, $\chi^2_{0.01(1)} = 6.63$; * 表示差异显著($P < 0.05$); ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: $df = 1$, $\chi^2_{0.05(1)} = 3.84$, $\chi^2_{0.01(1)} = 6.63$; Values with * differ at $P < 0.05$; Values with ** differ significantly at $P < 0.01$.

2.7 不同猪种和野猪 H-FABP 基因 PCR-RFLP 的多态信息含量

不同猪种和野猪 H-FABP 基因 PCR-RFLP 的多态信息含量见表 4。在 *H inf I*-RFLP 中, 大白猪、八眉猪、汉江黑猪、汉白猪和野猪表现为低度多态($PIC < 0.25$), 而其他猪种表现为中度多态性($0.25 < PIC < 0.5$)。在 *H aeIII*-RFLP 中, 除 4 个地方品种和野猪表现为低度多态性外($PIC < 0.25$), 其余猪种均为中度多态性($0.25 < PIC < 0.5$)。在 *M sp I*-RFLP 中, 长白猪、大白猪 4 个地方品种和野猪表现为低度多态性($PIC < 0.25$), 其余的则表现为中度多态性($0.25 < PIC < 0.5$)。

表 4 不同猪种和野猪 H-FABP 基因 PCR-RFLP 的多态信息含量

Table 4 PIC of H-FABP gene PCR-RFLP in different pig breeds and wild pig

品种 Breeds	遗传参数 Genetic parameter	RFLP		
		<i>H inf I</i> -RFLP	<i>H aeIII</i> -RFLP	<i>M sp I</i> -RFLP
DU	<i>PIC</i>	0.304 7	0.360 9	0.370 5
CH	<i>PIC</i>	0.322 5	0.343 7	0.133 6
DA	<i>PIC</i>	0.141 1	0.345 6	0.204 4
NE	<i>PIC</i>	0.345 6	0.000 0	0.000 0
BA	<i>PIC</i>	0.149 4	0.000 0	0.000 0
RO	<i>PIC</i>	0.335 9	0.000 0	0.000 0
HH	<i>PIC</i>	0.184 9	0.000 0	0.000 0
HB	<i>PIC</i>	0.222 5	0.364 8	0.356 6
YZ	<i>PIC</i>	0.110 3	0.194 9	0.194 2

3 讨 论

猪品种的遗传特征和特性是在一定的自然和社

会条件下, 通过人们的不断选育而形成的。一般而言, 品种的遗传基础越广泛, 其 DNA 多态性就越丰富。但是, 由于生活环境改变的影响, 品种遗传多样性可能会发生一些变化。本研究中, 杜洛克猪、长白猪、大白猪和野猪的 *H inf I*-RFLP 基因频率 H 分别为 0.750 0, 0.718 8, 0.916 7 和 0.937 5, 而 Grebens 等(1997)^[3]检测的相应基因频率为 0.70, 0.70, 0.98 和 0.90, 与本研究稍有不同; 而在内江猪、八眉猪、汉江黑猪和汉白猪的 *H inf I*-RFLP 研究中, 本研究结果尚属首次。汉白猪为培育品种, 受大白猪的影响较大; 荣昌猪因历史上曾导入长白猪和大白猪的血液而受到大白猪和长白猪的影响, 这或许是许多学者把荣昌猪列入培育猪种的原因之一。在第二内含子的 *H aeIII*-RFLP 中, 检测的地方品种中都不存在 *H aeIII* 多态性酶切位点, 基因型全为 DD 型, 而值得注意的是, 杜洛克猪、长白猪、大白猪、汉白猪和野猪中却存在 *H aeIII* 多态性酶切位点。在第二内含子 *M sp I*-RFLP 中, 除杜洛克猪和汉白猪之外, A 基因占优势, 检测的地方品种的基因型全为 AA 型。汉白猪由地方品种和引入品种杂交而成, 该品种的遗传基础比较广泛, 多态性较为丰富。本研究的结果与 Gerbens 等^[3]的研究结果基本一致, 而与林万华等^[5]的研究结果有一定差异, 这可能是猪品种不同所致。

χ^2 适合性检验表明, 3 个酶切位点基因频率和基因型频率在大部分猪种中都处于平衡状态, 这可能是因为长期的进化和选择, 造就了这些适应环境的遗传特性。在汉江黑猪中, HH 和 Hh 的理论基因型频率与实际相差较大, 这可能是 H 基因向 h 基因突变所致; 野猪中, hh 的差异较大, 是否与样本含量少有关, 还需进一步验证。

群体遗传多态性分析表明, 野猪在 3 种 RFLP 中的 *PIC* 均表现为低度多态。在 *H inf I*-RFLP 中, 除大白猪、八眉猪、汉江黑猪、汉白猪以及野猪的 *PIC* 为低度多态外, 其余全为中度多态; 在 *H aeIII*-RFLP 中, 除地方品种和野猪的 *PIC* 为低度多态外, 其余均为中度多态; 在 *M sp I*-RFLP 中, 除长白猪、大白猪、地方品种及野猪的 *PIC* 为低度多态外, 其余全为中度多态, 这基本与品种特征和采样的实际情况相符合。我国地方品种的脂肪沉积能力较强, 但具有肉质好、适应性强等优良特性, 这也为猪肉品质的改良提供了较好的遗传资源。有研究^[12]表明, 高肌肉脂肪的基因型组合为“aa-dd-HH”纯合单倍型, 而我国地方猪品种在这一些位点的 *PIC* 要么

为零,要么低度多态,其原因还有待于作MF含量相关性分析后才能加以讨论。

本研究中,8个猪种和野猪的H-FABP基因在5'端上游区的*H inf I*-RFLP均存在多态性,这或许是选育的结果。*H inf I*-RFLP位于H-FABP基因5'端上游区域内,影响H-FABP基因的表达,进而影响MF的含量^[13,14]。因此,5'端上游区的

H inf I-RFLP可以作为我国地方品种H-FABP基因与MF含量关系研究的遗传标记,同时继续研究H-FABP基因其他区域(如编码区域)的多态性,或许能更进一步弄清该基因与MF含量的关系。因此,研究H-FABP基因的多态性可以探讨H-FABP基因对于猪肉质的重要意义。

[参考文献]

- [1] Patrici A. Eating quality of pork in Denmark[J]. *Pig Farming(supplement)*, 1985, 10: 56- 57.
- [2] DeVol D L, Mckeith F K, Bechtel P J, et al Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses[J]. *Anim Sci*, 1988, 66(2): 385- 395
- [3] Gerbens F, Rettenberger D, Lenstra J A, et al Characterization, chromosomal localization and genetic variation of porcine heart fatty acid-binding protein gene[J]. *Mamm Genome*, 1997, 8: 328- 332
- [4] Hovenier, Kanis E, Verhoeven J A. Repeatability of taste panel tenderness scores and their relationships to objective pig meat quality traits[J]. *Anim Sci*, 1993, 71(8): 2018- 2025
- [5] 林万华, 黄路生, 任军, 等. 中外九个猪种H-FABP基因遗传变异的初步研究[J]. *Animal Biotechnology Bulletin*, 2000, 7: 1207- 1211.
- [6] Veerkamp G H. Cytoplasmic fatty acid binding proteins: Their structure and genes[J]. *Prog Lipid Res*, 1995, 34: 17- 52
- [7] Gerbens F, Jansen A, Jacques H, et al The adipocyte fatty acid-binding protein locus: Characterization and association with intramuscular fat content in pig[J]. *Mamm Genome*, 1998, 9: 1022- 1026
- [8] Janss L L G, de Koning D J, Rattubk P, et al Detection of quantitative traits loci for backfat thickness and intramuscular fat content in pig[J]. *Genetics*, 1999, 152: 1679- 1690
- [9] 曹红鹤, 李宏滨, 王立贤, 等. FABPS作为猪肌内脂肪性状基因的研究进展[J]. *国外畜牧科技*, 1997, 26(6): 31- 33
- [10] 萨姆布鲁克J, 弗里奇E F, 曼尼阿蒂斯T. 分子克隆实验指南[M]. 第2版 金冬雁, 黎孟枫, 译 侯云德, 校 北京: 科学出版社, 1999
- [11] 奥斯伯F, 布伦特R, 金斯顿R E, 等. 精编分子生物学指南[M]. 第2版 颜子颖, 王海林, 译 北京: 科学出版社, 1999
- [12] Gerbens F, Handers F L, Verburg F J, et al Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pig[J]. *Anim Sci*, 1999, 77(4): 846- 852
- [13] Gerbens F, de Koning D J, Harders F L, et al The effect of adipocyte and heart fatty acid-binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs[J]. *Anim Sci*, 2000, 78(3): 552- 559
- [14] Gerbens F, Verburg F J, Van Moerkerk H T, et al Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs[J]. *Anim Sci*, 2001, 79(2): 347- 354

PCR-RFLP molecular marker of pig H-FABP gene

PANG Wei-jun¹, YANG Gong-she¹, CAO Jing-feng², LONG Huo-sheng¹, XIANG Zhao¹, ZHANG Bao-jun¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Disease Control and Monitor Station, Tongchuan, Shaanxi 727007, China)

Abstract: In this experiment, genetic variations of 5' upstream region and the second intron in 265 pig H-FABP gene including Duroc, Landrace, Large white, Neijiang pig, Rongchang pig, Hanjiang Black pig, Hanzhong White pig, Bamei pig and wild pig were checked by PCR-RFLP Molecular Marker with *H inf I*, *HaeIII* and *Msp I*. The result showed that for *H inf I*-RFLP, the above pig breeds had polymorphism and frequencies of allele H are 0.750 0, 0.718 8, 0.916 7, 0.333 3, 0.125 0, 0.690 9, 0.116 7, 0.850 0 and 0.937 5 respectively; expect for Hanjiang Black pig ($P < 0.05$) and wild pig ($P < 0.01$), frequencies of gene and genotype in other breeds are in equilibrium of Hardy-Weinberg ($P > 0.05$); large white, Bamei pig, Hanjiang Black pig, Hanzhong White pig and wild pig present low polymorphism ($PIC < 0.25$) while other breeds have medium polymorphism ($0.25 < PIC < 0.5$). Among tested breeds, only 4 Chinese local pig breeds have no polymorphism at the *HaeIII*-RFLP and *Msp I*-RFLP sites

Key words: pig; H-FABP gene; PCR-RFLP; molecular marker; genetic variation