

鸡部分血液蛋白质位点多态性研究

马建岗 路兴中

(西北农业大学畜牧系, 陕西杨陵)

摘 要 采用改进的聚丙烯酰胺凝胶浓度梯度电泳法对5个鸡种的385个个体的血清样品进行了电泳分离, 结果表明: 前白蛋白, 白蛋白, 运铁蛋白具多态性。照相记录了典型的蛋白质电泳区带, 并根据其表型计算了各群体的基因型频率与基因频率。运用改进的浓度梯度电泳法标识出一个新的后运铁蛋白多态位点, 证明此法具有快速、简便、灵敏度高等优点。

关键词 鸡, 蛋白, 分离, 多态现象/血清

中图分类号 S831.2

蛋白质多态性是生物界比较普遍的现象, 研究它对揭示家禽品种的种质特性, 反映其基因库的内容与实质, 阐明品种的遗传结构, 亲缘关系, 以及追溯品种渊源、进化历程等方面^[1-6]都具有实际价值。国外在此方面的研究从60年代起至今一直非常活跃, 而国内则起步较晚, 公开报道资料不多。本研究以我国三个地方品种、两个外来品种(品系)为材料, 采用聚丙烯酰胺凝胶浓度梯度电泳法对鸡的血清进行了电泳分离, 以揭示我国地方鸡种血液蛋白质多态位点的分布及其基因表达方式, 为品种资源的监测、利用与保护提供基础遗传资料。

1 材料与方法

1.1 样本来源及采血

于1989年7~11月先后在陕西省农业学校试验鸡场、陕西省南郑县种猪场鸡场、陕西省韩城矿务局鸡场、陕西省略阳县有关农户及湖南省黔阳县畜牧良种场, 随机抽取来航鸡55只、罗斯鸡77只、泰和鸡100只、略阳鸡56只和雪峰鸡97只, 翼下静脉采血, 自然分离血清后备测。

1.2 实验室测定

选用SCR-6型电泳仪、垂直平板电泳槽, 参照Gahne^[6]的聚丙烯酰胺浓度梯度电泳法并加以改进, 在完全相同的实验条件下对血清蛋白质进行电泳分离。浓缩胶浓度为4%, 分离胶浓度梯度设置为8%, 12%和14%。缓冲系统及染色方法参考文献^[6,7]进行。初始电流为10 mA, 30 min后电流稳定至40 mA, 电压150 V, 电泳持续时间约17 h。

2 结果与分析

2.1 血清中多态蛋白质的电泳位置

用浓度梯度电泳法在一个凝胶板上可同时区分出前白蛋白(Pa)、白蛋白(Alb)、

运铁蛋白 (Tf) 和后运铁蛋白 (Ptf) 的变异体。如图 1 所示。Pa 泳动速度最快, Alb 次之, Tf 位于中间, Ptf 则靠近原点的深染部分。

2.2 蛋白质电泳区带

各多态蛋白质的电泳谱带如图 1~4。Pa 由两个等显性基因所支配, 纯合子 (AA, BB) 各出现两条带, 杂合子 (AB) 表现为三条带 (图 2)。Alb 由三个等显性基因 A, B, C 所控制, 表现六种基因型 (图 1)。Tf 纯合基因型表现为两条带, 一条深染, 一条浅染, 如图 3 所示。本试验的样本中只表现 BB, BC, CC 型个体, 而未见到 Stratil^[8] 所报道的 AA 纯合体及 AB, AC 杂合体。

试验发现, 在起点与运铁蛋白区带之间, 出现了泳动不同的条带 (图 4)。参照牛的蛋白质电泳图谱^[8], 将此位点定为后运铁蛋白位点 (Post-transferrin locus, Ptf)。Ptf 出现三种带型: 快带 (F 带)、慢带 (S 带) 和杂合带 (FS 带)。

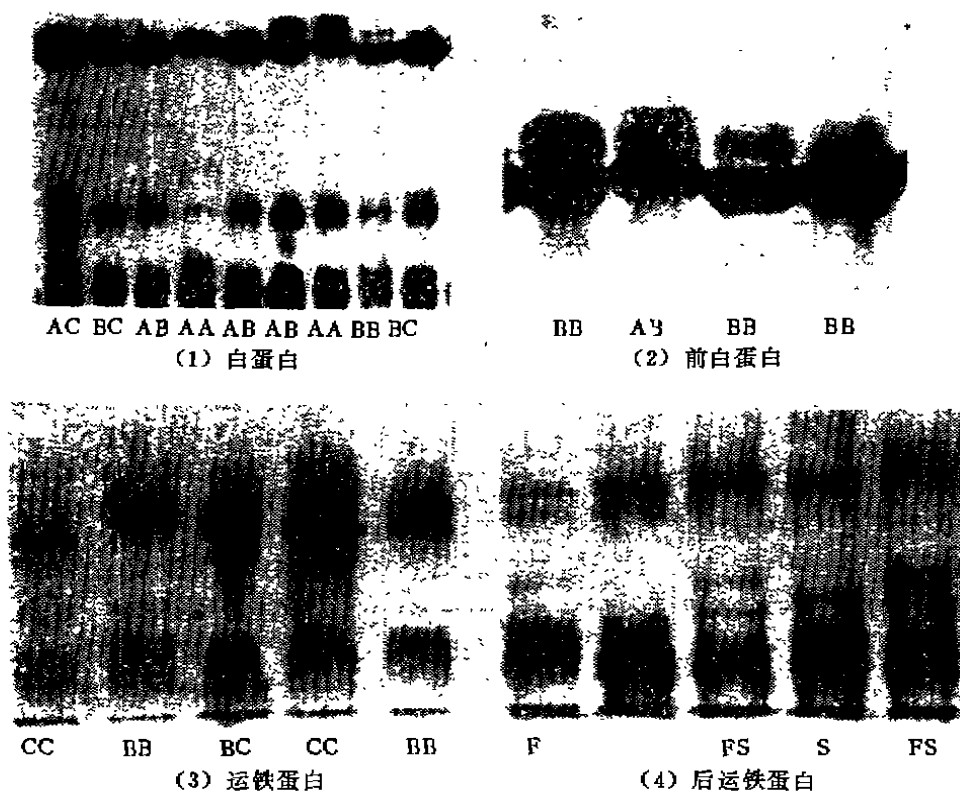


图1~4 鸡血清多态蛋白质电泳照片

2.3 群体的遗传组成

计算了 Pa, Alb, Tf 的基因型与基因频率, 结果表 (1, 2) 表明, Pa 型基因频率在各鸡种间差异明显。总的趋势是, 我国三个地方品种鸡 Pa^A 的频率低于引进鸡种, 而 Pa^B 的频率相对较高。在三个地方品种内部, 泰和鸡与略阳鸡 Pa 基因频率相近, 二者和雪峰鸡的频率相去甚远。Ahlawat^[9] 对印度地方鸡种 Karaknath 和 Aseel Pa 多态性的研究表明, 品种 Pa^A 与 Pa^B 的频率大致相同。由此可见, 一方面 Pa 在各鸡种间因来源不

同表现出较大的差异,显示出基因分布的地域性;另一方面亦可看出来航鸡和罗斯鸡的纯度比地方鸡种高,这可能是由于高度选种的结果。

表1 Pa, Alb, Tf位点的基因型频率分布

鸡种	数量 (只)	Pa型			Alb型					Tf型			
		AA	BB	AB	AA	BB	CC	AB	AC	BC	BB	CC	BC
来航	55	0.7818	0.0364	0.1818	0.0727	0.6727	0	0.1818	0	0.0727	0.9091	0	0.0909
罗斯	77	0.5455	0.0649	0.3896	0.0519	0.5584	0.0130	0.2078	0.0130	0.1558	0.9610	0	0.0390
泰和	100	0.0800	0.5800	0.3300	0.0500	0.6200	0	0.1700	0	0.1600	0.9500	0.0400	0.0100
略阳	56	0.0893	0.4643	0.4464	0.0536	0.6071	0.0179	0.1607	0.0179	0.1429	0.9286	0.0179	0.0536
雪峰	97	0.4123	0.1237	0.4639	0	0.8144	0	0.1237	0	0.0619	0.9588	0.0103	0.0309

表2 Pa, Alb, Tf位点的基因频率分布

鸡种	数量	Pa ^A	Pa ^B	Alb ^A	Alb ^B	Alb ^C	Tf ^A	Tf ^B	Tf ^C
来航	55	0.8707	0.1273	0.1636	0.8000	0.0364	0	0.9545	0.0455
罗斯	77	0.7403	0.2597	0.1623	0.7403	0.0974	0	0.9805	0.0195
泰和	100	0.2450	0.7550	0.1350	0.7850	0.0800	0	0.9550	0.0450
略阳	56	0.3125	0.6875	0.1429	0.7589	0.0982	0	0.9554	0.0446
雪峰	97	0.6443	0.3557	0.0619	0.9072	0.0309	0	0.9742	0.0258

在所研究的鸡种内, Alb^B 基因均以较高的频率出现, 雪峰鸡尤甚, 此结果与前人报道^[2, 10]的基本一致, 不过 Alb^A 基因频率在绝大多数日本地方鸡种中为零, 而在本研究的鸡种中却有一定的分布。

在所研究的群体中, 绝大多数个体的 Tf 表型为 BB 型, 而未出现 AA, AB, AC 型, 表示该位点纯合度较高。Tf^B 基因在家鸡各品种中的频率分布占绝对优势, 在某些鸡种中该位点甚至纯合, 这一现象为先前众多的研究所证实^[2, 9, 10]。

3 讨 论

3.1 关于蛋白质的电泳分离方法

蛋白质变异研究的发展, 同时促进了电泳方法本身的发展; 而电泳方法的不断创新和完善, 促进了蛋白质分离的更加深入。Smithes 首创的淀粉凝胶电泳法, 曾给人和家畜的蛋白质多态性研究带来一场革命, 尔后出现的聚丙烯酰胺凝胶电泳法和浓度梯度电泳法, 使蛋白质的分离更加精细^[7]。本试验采用 Gahne 的聚丙烯酰胺浓度梯度电泳法并加以改进, 在一个平板上可同时分离出 Pa, Alb, Tf, Ptf 的变异体, 带型清晰, 方法简便, 一举数得, 不失为一种高效率的蛋白质分离方法。

3.2 前白蛋白和白蛋白的多态性

Pa 和 Alb 多态性的研究, 先前多采用淀粉凝胶电泳法^[1]。本试验初作者曾使用淀粉凝胶和聚丙烯酰胺凝胶浓度梯度电泳两种方法, 同时对鸡的血清进行电泳分离, 发现前者分离不出 Pa, Alb 的变异体, 却在后者的平板上明显地区分开来。我国对鸡的血液蛋白质多态性研究较少, 在业已出现的研究报告中, 也未见到有关对鸡的 Pa, Alb 多态性的报道。本研究证实, Pa, Alb 均为多态位点。过去的研究可能由于电泳方法掌握不当, 而使本来具有多态性的蛋白质难以区分开来。

3.3 关于后运铁蛋白位点

研究中发现, 在起点与运铁蛋白区带之间出现新的变异带, 初定为后运铁蛋白 (Ptf) 位点。鉴于缺乏系谱资料, 未能进行鸡的交配实验, 故遗传方式尚难完全确定。不过根据电泳谱带 (F, S, FS) 推测, 可能是由一个位点上两个等显性基因所支配。这方面还有待进一步的研究来证实。

参 考 文 献

- 1 Lush I E. Genetic polymorphisms in the egg albumen proteins of the domestic fowl, *Nature*, 1961, 194: 982~984
- 2 Tanabe Y, Mizutani M. Studies on the phylogenetic relationships of the Japanese native fowl breeds. 3. Genetic distance among the 16 breeds based on 19 loci, and their dendrogram, *Japan Poult Sci*, 1980, 17: 116~121
- 3 Okada I, Nishimura I, Akiyama M. An analysis on the genetic structure of four-way crossbred Nohria 101. *Japan Poult Sci*, 1978, 15: 259~262
- 4 Jain R S. Transferrin polymorphism and economic traits in White Leghorn. *Indian J Anim Sci*, 1980, 50: 970~974
- 5 Washburn K W, Eidson C S, Lowe R H. Association of hemoglobin type with resistance to Marek's disease. *Poult Sci*, 1971, 50: 90~93
- 6 Gahne B, Juneja R K, Grolmus J. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle. *Anim Blood Grps Biochem Genet*, 1977, 8: 127~173
- 7 莽克强, 徐乃正, 方荣祥. 聚丙烯酰胺凝胶电泳. 北京: 科学出版社, 1975. 49~60
- 8 Stratil A. Transferrin and albumin loci in chickens. *Comp Biochem Physiol*, 1968, 24: 113~121
- 9 Ahlawat S P S. Transferrin and prealbumin polymorphism in Karaknath and Aseel breed of Indigenous origin. *Indian J Anim Res*, 1983, 17 (1): 35~39
- 10 Okada I, Yamamoto Y, Hashiguchi T et al. Phylogenetic studies on the Japanese native breeds of chickens. *Japan Poult Sci*, 1984, 21: 318~329

A Study on the Blood Protein Polymorphisms of Some Loci in Chickens

Ma Jiangang Lu Xingzhong

(Department of Animal Husbandry, Northwest Agricultural University,
Yangling, Shaanxi)

Abstract Serum samples from 385 chickens of different breeds were analysed by the improved vertical polyacrylamide gradient gel electrophoresis. The results showed that prealbumin (Pa), albumin (Alb) and transferrin (Tf) were polymorphic. Pictures of the typical protein electrophoretic variants were taken, and the genotype and gene frequencies of different populations were calculated based on their phenotypes. A new polymorphic locus, post-transferrin locus (Ptf) was designated with the improved electrophoretic method which was proved to have quick, easy and sensitive advantages.

Key words Chicken, protein, isolation, polymorphism/serum