猪 LPL 基因 PCR-RFLP 遗传变异的研究*

张保军, 杨公社, 孙　超, 龙火生, 庞卫军, 陈国柱, 林亚秋,
孟德连, 屈长青, 李　影, 张立杰, 于太永
(西北农林科技大学 动物脂肪沉积与肌肉发育实验室, 陕西 杨凌 712100)

[摘　要]　利用 PCR-RFLP 技术, 对大白猪、长白猪、杜洛克、荣昌猪、内江猪、八眉猪、汉中白猪、汉江黑猪 8 个家猪品种和 1 个野猪种共 368 头猪 *LPL* 基因的第 6 和第 8 内含子进行遗传变异研究。结果表明: (1) 在第 6 内含子的 *Sma*Ⅰ-RFLP 位点上, 各猪种均存在多态性, 长白、杜洛克、内江猪和八眉猪以 AA 和 AB 基因型为主, 大白、荣昌猪、汉中白猪、汉江黑猪及野猪以 AB 和 BB 基因型为主; 在 *Pvu*Ⅱ-RFLP 位点上, 国外猪种均为 DD 纯合子, 而国内猪种和野猪在此位点上均存在变异; (2) 在第 8 内含子的 *Hin*dⅢ-RFLP 位点上, 国外猪种和荣昌猪表现出多态性, 而国内其他猪种和野猪均为 FF 纯合子; 在 *Eco*RⅠ-RFLP 位点上, 各猪种均表现多态性, 且以 GH 杂合子为主, 没有表现出差异。

[关键词]　猪; *LPL* 基因; 遗传变异; PCR-RFLP
[中图分类号]　S828.9+10.2　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1671-9387(2005)03-0005-06

我国地方猪种多为脂肪型, 瘦肉率只有 45%～50%[1], 表明我国地方猪种脂肪蓄积能力过强, 这一因素一直制约着我国生猪生产乃至整个养猪业的发展。近年来, 育种学家们正积极探寻影响脂肪沉积的主效基因, 试图从分子水平上控制脂肪含量, 提高瘦肉率。

LPL 基因属于脂肪酶基因家族, 是由脂肪细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞、乳腺细胞及巨噬细胞等实质细胞合成和分泌的一种酰基甘油水解酶[2,3], 在甘油三酯代谢中起着关键作用, 可将乳糜微粒(CM)和极低密度脂蛋白(VLDL)中的甘油三酯水解为甘油和脂肪酸, 以能量形式被组织利用或储存[4～6]。鉴于 *LPL* 基因在脂类代谢过程中的生物学功能, 才被定为影响脂肪沉积的候选基因[7]。

LPL 基因被定位于猪的 14q1.2～q1.4, 包括 10 个外显子和 9 个内含子。Harbitz 等[8]对猪 *LPL* 基因多态性进行了研究, 但未确定不同基因型与生产性状的关系。吴帧方等[9]利用 PCR-SSCP 技术对梅山、通城、大白及长白猪的 *LPL* 基因进行了分析, 结果在 5′UTR 发现 SSCP 多态性, 认为等位基因 C 可能是背膘厚向下选择的有利等位基因。雷明刚[10]应用 PCR-RFLP 技术, 对长白猪、大白猪、杜洛克、清平猪、通城猪和"大白×梅山"F_2 代的 *LPL* 基因 5′UTR 的 *Mlu*Ⅰ和第 6 内含子的 *Sma*Ⅰ 2 个位点进行了多态性分析, 结果表明, 在 *Mlu*Ⅰ位点各猪种以 mm 基因型为主, 无品种特征; 而第 6 内含子 *Sma*Ⅰ的位点 TT 基因型和 tt 基因型在平均背膘厚上存在显著差异。

本研究利用 PCR-RFLP 技术, 对中外 8 个家猪品种和 1 个野猪种 *LPL* 基因的第 6 和第 8 内含子进行了遗传变异研究, 以期为猪 *LPL* 基因结构与功能的全面认识提供参考, 并为 *LPL* 基因不同基因型与脂肪沉积关系的进一步确定奠定基础。

1　材料与方法

1.1　试验材料

以 8 个家猪品种和 1 个野猪种共 368 头猪的血样或耳组织样作为试验材料, 其中 50 头大白猪、60 头长白猪和 55 头杜洛克采自西北农林科技大学动物科技学院种猪场; 55 头荣昌猪采自重庆荣昌养猪研究院及种猪场; 30 头内江猪采自四川内江市种猪场; 24 头八眉猪采自青海互助县种猪场; 36 头汉中白猪采自陕西汉中市种猪场; 32 头汉江黑猪采自陕西勉县勉西种猪场; 26 头野猪采自陕西西安三桥猪

* [收稿日期]　2004-04-28
[基金项目]　国家自然科学基金项目(200168572)
[作者简介]　张保军(1977-　), 男, 天津蓟县人, 硕士, 主要从事生物技术与家畜育种研究。
[通讯作者]　杨公社(1959-　), 男, 陕西富平人, 教授, 博士生导师, 主要从事生物技术与家畜育种研究。E-mail: gsyang999@163.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

场及宝鸡市野生动物检疫站。每头猪采血样5 mL,用EDTA抗凝,加入等体积裂解液保存;采耳组织样0.5~1 g,存放于装有体积分数70%乙醇的青霉素小瓶中。血样和组织样均可于-70 ℃冰箱中长期保存。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA的提取 参照《分子克隆实验指南》[11]从血样和耳组织中提取DNA。

1.2.2 PCR扩增 根据GenBank AF050163序列和雷明刚[10]发表的序列,应用Primer 5.0设计引物,用Oligo 6.0进行引物评价,由上海生物工程公司进行引物合成。

第6内含子的扩增引物为:

上游5′-GCAACGGAGATGATAAAACGA-3′;

下游5′-GAAACCCTACAGCCCCAAGAA-3′;

第8内含子的扩增引物为:

上游5′-CCCTGGCTTTGCTATTGAGA-3′;

下游5′-GAGACTTGTCGTGGCATTTCA-3′。

PCR扩增反应体系为25 μL,其中含有基因组DNA 50 ng,10×缓冲液2.5 μL,引物0.2 μmol/L,$MgCl_2$ 2.0 mmol/L,dNTP 200 μmol/L,*Taq* DNA聚合酶(Promega) 1.6 U。扩增条件为:95 ℃预变性5 min;然后94 ℃变性1 min,61.8~64.2 ℃退火1 min,72 ℃延伸2 min,共35个循环;最后72 ℃延伸10 min。

1.2.3 限制性内切酶酶切 以*Sma*Ⅰ和*Pvu*Ⅱ(MBⅠ,Takara)分别酶切第6内含子,*Hin*dⅢ和*Eco*RⅠ(MBⅠ,Takara)分别酶切第8内含子,酶切反应体系为12 μL,其中扩增产物8 μL,限制性内切酶8 U,缓冲液2 μL,补ddH_2O至12 μL,37 ℃水浴过夜。酶切产物经质量分数2%的琼脂糖凝胶电泳检测。

2 结果与分析

2.1 *LPL*基因第6内含子的PCR-RFLP结果

根据雷明刚[10]报道的序列,扩增*LPL*基因的第6内含子片段为1 434 bp,经过*Sma*Ⅰ和*Pvu*Ⅱ 2种内切酶酶切,其PCR-RFLP等位基因及相应的酶切片段长度见表1。

表1 *LPL*基因第6内含子PCR-RFLP的等位基因及酶切片段长度

Table 1 The alleles and corresponding fragment lengths of intron 6 in *LPL* gene

PCR-RFLP	等位基因 Alleles	片段大小/bp Fragment lengths
*Sma*Ⅰ	A	1 434
	B	878+556
*Pvu*Ⅱ	C	1 434
	D	1 234+200

*LPL*第6内含子的*Sma*Ⅰ-RFLP,扩增的1 434 bp片段中有1个*Sma*Ⅰ切点,该位点为多态性酶切位点。当此酶切位点存在时,产生的片段定义为等位基因B(878+556 bp),消失时产生的片段定义为等位基因A(1 434 bp),如图1所示。

*LPL*第6内含子的*Pvu*Ⅱ-RFLP,扩增的1 434 bp片段中有1个*Pvu*Ⅱ切点,该位点为多态性酶切位点。当此酶切位点存在时产生的片段定义为等位基因D(1 234+200 bp),消失时产生的片段定义为等位基因C(1 434 bp),如图2所示。

图1 *LPL*基因第6内含子*Sma*Ⅰ-RFLP酶切图谱

M. SD004 marker; 1, 2, 5, 8, 9, 12. AA; 3, 6, 11, 13. BB; 4, 7, 10, 14. AB

Fig. 1 Patterns of intron 6 in *LPL* gene defined by *Sma*Ⅰ-RFLP

M. SD004 marker; 1, 2, 5, 8, 9, 12. AA; 3, 6, 11, 13. BB; 4, 7, 10, 14. AB

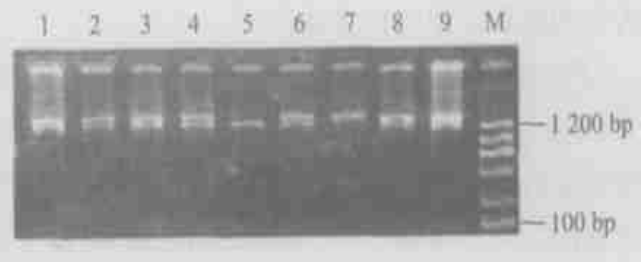

图2 *LPL*基因第6内含子*Pvu*Ⅱ酶切图谱

M. SD004 marker; 1~4, 6, 8, 9. CD; 5. DD; 7. CC

Fig. 2 Patterns of intron 6 in *LPL* gene defined by *Puv*Ⅱ-RFLP

M. SD004 marker; 1~4, 6, 8, 9. CD; 5. DD; 7. CC

2.2 *LPL*基因第8内含子的PCR-RFLP结果

根据GenBank AF050163序列,扩增*LPL*基因的第8内含子片段为1 901 bp,经过*Hin*dⅢ和*Eco*RⅠ 2种内切酶酶切,每种PCR-RFLP的等位

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

基因及相应的酶切片段长度见表 2。

表 2　*LPL* 基因第 8 内含子 PCR-RFLP 的等位基因及酶切片段长度

Table 2　The alleles and corresponding fragment lengths of intron 8 in *LPL* gene

PCR-RFLP	等位基因 Alleles	片段大小/bp Fragment lengths
*Hin*dⅢ	E	1 901
	F	1 283+ 618
*Eco*RⅠ	G	1 901
	H	1 223+ 678

LPL 第 8 内含子的 *Hin*dⅢ-RFLP, 扩增的 1 901 bp 片段中有 1 个 *Hin*dⅢ切点, 该位点为多态性酶切位点, 当此酶切位点因变异消失时, 1 283 和 618 bp 片段合并产生 1 901 bp 的片段, 定义为等位基因 E (1 901 bp) 和 F (1 283+ 618 bp), 如图 3 所示。

LPL 第 8 内含子的 *Eco*RⅠ-RFLP, 扩增的 1 901 bp 片段中有 1 个 *Eco*RⅠ切点, 该位点为多态性酶切位点, 当此酶切位点因变异消失时, 1 223 和 678 bp 的片段合并产生 1 901 bp 的片段, 定义为等位基因 G (1 901 bp) 和 H (1 223+ 678 bp), 如图 4 所示。

图 3　*LPL* 基因第 8 内含子 *Hin*dⅢ酶切图谱

M. D016-2 marker; 1～9. FF

Fig. 3　Patterns of intron 8 in *LPL* gene defined by *Hin*dⅢ-RFLP

M. D016-2 marker; 1- 9. FF

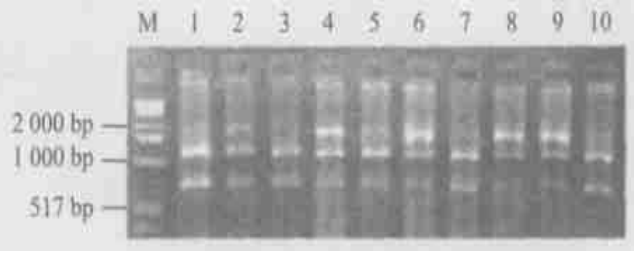

图 4　*LPL* 基因第 8 内含子 *Eco*RⅠ酶切图谱

M. D016-2 marker; 1, 3, 7, 10. HH; 2, 4, 5, 6, 8, 9. GH

Fig. 4　Patterns of intron 8 in *LPL* gene defined by *Eco*RⅠ-RFLP

M. D016-2 marker; 1, 3, 7, 10. HH; 2, 4, 5, 6, 8, 9. GH

2.3　各猪种 *LPL*-RFLPs 的基因型分布及基因频率分析

各猪种 *LPL* 基因第 6 内含子的 PCR-RFLP 基因型分布及基因频率的统计结果见表 3。由表 3 可知, 在第 6 内含子的 *Sma*Ⅰ-RFLP 位点上, 大白猪、荣昌猪、汉中白猪、汉江黑猪及野猪以 BB 基因型为主, 而长白、杜洛克、内江猪和八眉猪以 AA 和 AB 基因型为主; 经 χ^2 检验, 上述 2 种类型猪种间基因型差异达极显著水平 ($P < 0.01$), 尤其是汉中白猪与其他猪种差异均达极显著水平 ($P < 0.01$)。在第 6 内含子的 *Pvu*Ⅱ-RFLP 位点上, 国外猪种均为 DD 纯合型, 而国内猪种和野猪均存在变异; 经 χ^2 检验, 除汉中白猪外, 中国地方猪种与国外猪种差异均达显著水平 ($P < 0.05$)。

表 3　8 个猪种 *LPL* 基因第 6 内含子 PCR-RFLPs 基因型及基因频率的分布

Table 3　Genotype distribution and allele frequency of intron 6 in *LPL* gene PCR-RFLPs of 8 pig breeds

品种 Breed	样本数 Number of pigs	*Sma*Ⅰ-RFLP 基因型分布 Genotype			*Sma*Ⅰ-RFLP 基因频率 Allele frequency		*Pvu*Ⅱ-RFLP 基因型分布 Genotype			*Pvu*Ⅱ-RFLP 基因频率 Allele frequency	
		AA	AB	BB	A	B	CC	CD	DD	C	B
大白猪 L. Y.	50	4	19	27	0.270 0	0.730 0	0	0	50	0.000 0	1.000 0
长白 L. D.	60	30	26	4	0.718 8	0.281 2	0	0	60	0.000 0	1.000 0
杜洛克 Du	55	20	30	5	0.636 4	0.363 6	0	0	55	0.000 0	1.000 0
荣昌猪 R. C.	55	4	31	20	0.354 5	0.645 5	7	26	22	0.363 6	0.636 4
内江猪 N. J.	30	14	14	2	0.700 1	0.299 9	2	16	12	0.333 3	0.666 7
八眉猪 B. M.	24	8	12	4	0.583 3	0.416 7	2	12	10	0.333 3	0.666 7
汉中白猪 H. B.	36	0	7	29	0.097 2	0.902 8	0	3	33	0.041 7	0.958 3
汉江黑猪 H. H.	32	2	14	16	0.281 2	0.718 8	6	12	14	0.375 0	0.625 0
野猪 Y	26	0	9	17	0.173 1	0.826 9	5	8	13	0.346 1	0.653 9

各猪种 *LPL* 基因第 8 内含子的 PCR-RFLP 基因型分布及基因频率的统计结果见表 4。由表 4 可知, 在 *Hin*dⅢ-RFLP 位点上, 除国外猪种和荣昌猪存在遗传变异外, 其余国内猪种和野猪均为 FF 纯合型。经 χ^2 检验, 荣昌猪与其他猪种的差异均达极显著水平 ($P < 0.01$)。在 *Eco*RⅠ-RFLP 位点上, 国

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

外猪种和中国地方猪种均以GH基因型为主,H等位基因频率较高,只有个别猪种间存在差异。

表4 第8内含子上各猪种*LPL*基因PCR-RFLPs基因型及基因频率的分布

Table 4 Genotype distribution and allele frequency of intron 8 in *LPL* gene PCR-RFLPs of 8 pig breeds

品种 Breed	样本数 Number of pigs	*Hin*dⅢ-RFLP 基因型分布 Genotype			基因频率 Allele frequency		*Eco*RⅠ-RFLP 基因型分布 Genotype			基因频率 Allele frequency	
		AA	AB	BB	A	B	CC	CD	DD	C	B
大白猪 L. Y.	50	0	1	49	0.010 0	0.990 0	0	44	6	0.440 0	0.560 0
长白 L. D.	60	0	3	57	0.025 0	0.975 0	0	42	18	0.350 0	0.650 0
杜洛克 Du	55	0	6	49	0.054 6	0.945 4	0	40	15	0.363 6	0.636 4
荣昌猪 R. C.	55	0	21	34	0.190 9	0.809 1	0	37	18	0.336 4	0.663 6
内江猪 N. J.	30	0	0	30	0.000 0	1.000 0	0	28	2	0.466 7	0.533 3
八眉猪 B. M.	24	0	0	24	0.000 0	1.000 0	0	13	11	0.270 8	0.729 2
汉中白猪 H. B.	36	0	0	36	0.000 0	1.000 0	0	33	3	0.458 4	0.541 6
汉江黑猪 H. H.	32	0	0	32	0.000 0	1.000 0	0	29	3	0.453 1	0.546 9
野猪 Y	26	0	0	26	0.000 0	1.000 0	0	20	6	0.384 6	0.615 4

3 讨 论

3.1 *LPL*基因第6内含子的遗传变异

在第6内含子的*Sma*Ⅰ-RFLP位点上,大白、荣昌猪、汉中白猪、汉江黑猪及野猪B等位基因频率较高,而长白、杜洛克、内江猪和八眉猪A等位基因频率较高。其中大白猪B等位基因频率为73.00%,长白猪、杜洛克A等位基因频率分别为71.88%和63.64%。雷明刚[10]报道,大白猪以tt等位基因居多,t等位基因频率为78.57%,长白猪以TT基因型居多,T等位基因频率为64.47%;杜洛克的T、t基因频率相差不大。可见,二者只是标记等位基因的方法不同,但结果基本一致,在该位点上未表现出基因型与脂肪性状的相关性。其中基因型分布和基因频率的差异,可能是扩增目的片段的长度不同而导致酶切位点的位置不同所致,也可能是品种、样品来源和样本数量不同造成的。

在第6内含子的*Pvu*Ⅱ-RFLP位点上,国外猪种均为DD纯合型,而国内猪种和野猪均存在变异,反映出在此位点国外猪种遗传品质纯合,中国地方猪种多态性丰富;但国内猪种也以DD基因型为主,D等位基因频率较高。由表3可知,中国地方猪种(除汉中白猪外)与国外猪种差异均达显著水平($P<0.05$),国内外许多学者[12~16]在研究人*LPL*基因*Pvu*Ⅱ-RFLP多态性与多种脂代谢疾病的关系时发现,*Pvu*Ⅱ-RFLP纯合型与血浆胆固醇、高密度脂蛋白浓度显著相关,与本研究结果基本一致。尽管由于种属不同而造成基因型不同,且扩增的目的片段长度和限制性片段长度存在一定差异。中国脂肪型猪种与国外瘦肉型猪种有明显的基因型差异,C等位基因可能与我国猪种脂肪含量高相关,可作为脂肪沉积的有效分子标记。汉中白猪与国外猪种基因型差异不显著,这与该猪种属于培育品种,在选育过程中受到国外猪种的影响相一致。

3.2 *LPL*基因第8内含子的遗传变异

在第8内含子的*Hin*dⅢ-RFLP位点上,国外猪种和荣昌猪存在遗传变异,其余国内猪种和野猪均为FF纯合型。这与国内外许多学者[12~15,17~20]在研究人*LPL*基因的*Hin*dⅢ-RFLP多态性与多种脂代谢疾病的关系时发现的,*Hin*dⅢ-RFLP纯合型与血浆胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白浓度显著相关正好相反,可能是由于种属不同而造成基因型不同,其扩增的目的片段长度和限制性片段长度存在一定差异。荣昌猪基因型分布与国外猪种趋于一致,含有E等位基因和EF杂合子,具有明显的品种特征,可能与荣昌猪曾导入少量大白猪和长白猪的血液,受到大白猪和长白猪的影响有关。

在第8内含子的*Eco*RⅠ-RFLP位点上,国外猪种和中国地方猪种均以H等位基因频率较高,只有个别猪种间存在差异,无明显的品种特征,由于此位点属首次研究,不能进行比较分析,要在此位点上寻找有效标记仍需进一步研究。

3.3 家猪与野猪的亲缘关系及其遗传资源保护

野猪在以上4个位点上,基因型和基因频率均与中国地方猪种表现一致,说明本试验采用的野猪与中国地方猪种亲缘关系较近,中国地方猪种受亚洲野猪的影响较大,与中国地方猪种起源于亚洲野猪相吻合,同时也反映了两者在品种特征上的一致性。而国外猪种的基因型和基因频率与野猪存在显

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

著差异, 反映了国外猪种与野猪的亲缘关系较远, 在品种特征上存在差异。

本试验结果也表明, 中国地方猪种和野猪蕴藏着丰富的多态性, 而随着目前地方猪种种群规模的不断衰减, 加之长期以来遗传漂变和环境因素的影响, 中国地方猪种的某些位点丢失, 因此有必要加大力度保护我国丰富的家畜遗传资源, 从而为今后的遗传改良奠定基础。

本试验首次分析了猪 *LPL* 基因第 6 内含子 *Pvu* Ⅱ-RFLP 及第 8 内含子 *Hin*dⅢ-RFLP 和 *Eco*RⅠ-RFLP 的多态性, 初步证明 *Pvu* Ⅱ-RFLP 和 *Hin*dⅢ-RFLP 2 个位点与猪的脂肪性状相关, 可能成为与脂肪沉积相关的分子标记, 但欲将其应用于育种实践, 仍还需与生产性能进行相关分析, 并作进一步研究。

[参考文献]

[1] 中国畜禽品种志编辑委员会. 中国猪品种志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.

[2] Goldberg I J. Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis[J]. J Lipid Res, 1996, 37: 693-707.

[3] Ma K, Cilingiroglu M, Otvos J D, et al. Endothelial lipase is a major genetic determinant for high-density lipoprotein concentration, structure, and metabolism[J]. Proc Natl Acad Sci U SA, 2003, 100(5): 2748-2753.

[4] Borggreve S E, De Vries R, Dullaart R P. High-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin: cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins[J]. Eur J Clin Invest, 2003, 33(12): 1051-1069.

[5] Humphries S E, Nicaud V, Margalef J, et al. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides: the European Atherosclerosis Research Study (EARS)[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998, 18: 526-534.

[6] McDonnell M G, Young I S, Nicholls D P, et al. Genetics of the lipoprotein lipase gene and hypertriglyceridaemia[J]. Br J Biomed Sci, 2003, 60(2): 84-88.

[7] Lusis A J. Genetic factors affecting blood lipoproteins: the candidate gene approach[J]. J Lipid Res, 1988, 29: 397-430.

[8] Harbitz I, Kristensen T, Kran S, et al. Isolation and sequencing of porcine lipoprotein lipase cDNA and its use in multiallelic restriction fragment length polymorphism detection[J]. Anim Genet, 1992, 23(6): 517-522.

[9] 吴帧方, 熊远著, 邓昌彦, 等. 猪 *LPL* 基因多态性及其部分 DNA 片段的测序[J]. 华中农业大学学报, 1999, 18(5): 461-465.

[10] 雷明刚. *LPL* 和 HSL 基因的分子遗传研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2002.

[11] Joe Sambrook, David Russell. Molecular cloning: a laboratry manual[M]. New York: Cold Spring Harbor Lab (CSHL) Press, 2001.

[12] Anderson J L, King G J, Bair T L, et al. Association of lipoprotein lipase gene polymorphisms with coronary artery disease[J]. J Am Coll Cardiol, 1999, 33(4): 1013-1020.

[13] Abu-Amero K K, Wyngaard C A, Al-Boudari O M, et al. Lack of association of lipoprotein lipase gene polymorphisms with coronary artery disease in the Saudi Arab population[J]. Arch Pathol Lab Med, 2003, 127(5): 597-600.

[14] Ferencak G, Pasalic D, Grskovic B, et al. Lipoprotein lipase gene polymorphisms in Croatian patients with coronary artery disease[J]. Clin Chem Lab Med, 2003, 41(4): 541-546.

[15] Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Hattori N, et al. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese[J]. Stroke, 2001, 32(7): 1481-1486.

[16] 朱文丽, 张震涛, 王军波, 等. 脂蛋白脂酶基因 *Pvu* Ⅱ 位点多态性与高脂血症人群膳食干预易感性的关系[J]. 卫生研究, 2003, 32(2): 147-149; 158.

[17] Larson I, Hoffmann M M, Ordovas J M, et al. The lipoprotein lipase *Hin*dⅢ polymorphism: association with total cholesterol and LDL-cholesterol, but not with HDL and triglycerides in 342 females[J]. Clin Chem, 1999, 45(7): 963-968.

[18] Malygina N A, Kostomarova I V, Deriagin G V, et al. *Hin*dⅢ DNA-polymorphism of lipoprotein lipase gene in elderly patients with ischemic heart disease[J]. Ter Arkh, 2002, 74(2): 64-66.

[19] Ma Y Q, Thomas G N, Ng M C, et al. The lipoprotein lipase gene *Hin*dⅢ polymorphism is associated with lipid levels in early-onset type 2 diabetic patients[J]. Metabolism, 2003, 52(3): 338-343.

[20] Shagisultanova E I, Mustafina O E, Tuktarova I A, et al. *Hin*dⅢ polymorphism of lipoprotein lipase gene and risk of myocardial infarction[J]. Mol Gen Mikrobiol Virusol, 2001, (3): 18-22.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Genetic variation of *LPL* gene of pig with PCR-RFLPs

ZHANG Bao-jun, YANG Gong-she, SUN Chao, LONG Huo-sheng, PANG Wei-jun, CHEN Guo-zhu, LIN Ya-qiu, MENG De-lian, QU Chang-qing, LI Ying, ZHANG Li-jie, YU Yong-tai

(*College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China*)

Abstract: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms (PCR-RFLPs) was used to study the genetic variation of *LPL* gene in the intron **6** and **8** of **368** pigs, including Large Yorkshire, Landrace, Duroc, Rongchang Pig, Neijiang Pig, Bamei Pig, Hanzhong White Pig, Hanjiang Black Pig and Boar. The polymorphisms were detected in all breeds and Boar at the *Sma* Ⅰ-RFLP loci in intron **6**, and the AA and AB genotype were prevailing in Landrace, Duroc, Neijiang Pig and Bamei Pig. The exotic breeds including Large Yorkshire, Landrace, Duroc presented only DD genotype while native breeds and Boar varied at the *Pvu* Ⅱ-RFLP loci in intron **6**. The exotic breeds and Rongchang Pig varied while others presented only FF genotype at the *Hin*dⅢ-RFLP loci in intron **8**. All of the tested breeds and Boar presented variation at the *Eco*R Ⅰ-RFLP loci in intron **8**, and the GH genotype was in majority. In conclusion, the two sites of *Pvu* Ⅱ-RFLP and *Hin*dⅢ-RFLP were considered effective markers associated with fat deposition.

Key words: pig; *LPL* gene; genetic variation; PCR-RFLP

(上接第4页)

Abstract ID: 1671-9387(2005)03-0004-EA

Mouse parthenogenesis and isolation of ES cell-like colonies from parthenogenetic embryos

CAO Hong-guo, LIU Jun-ping, ZHANG Yong

(*Institute of Bio-engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China*)

Abstract: In order to study parthenogenesis in depth, ES cells from parthenogenetic embryos of mice were isolated and cultured. Adult Kunming mice were superovulated with PMSG and HCG, and then oocytes were taken from mice oviducts. After treating **7** min with ethanol, oocytes were put on the feeder layer of mouse oviduct epidermal cells with mM **16** media. When developed to the stage of early blastocyst, oocytes were transferred to the feeder layer of mouse embryo fibroblast with cardiomyocyte media conditioned, and then ICMs were digested and recultured. ES cell-like colonies were isolated after **2** days, identificated from morphology and with AKP staining and by differention in vitro. Results show that activation rate of mouse oocyte was **96.99**%, **2**-cell development rate **93.17**%, morula development rate **80.33**%, and blastocyst development rate **73.22**%. ES cell-like colonies were island-like, positive by AKP staining, and can spontaneously differentiate into epidermal-like cells or others around them. This demonstrates that ES cell-like colonies can be isolated from mice parthenogenetic embryos.

Key words: mouse; oocyte; parthenogenetic activation; ES cell-like colony

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net