

长白和蓝塘猪印记基因 *IGF2* 和 *H19* 的 时 空 表 达 研 究

吴嫦丽^{1,2}, 许继国¹, 吴同山³, 卫恒习¹, 李 莉¹, 李紫聪¹, 吴珍芳¹, 张守全¹
(1 华南农业大学 动物科学学院, 广东省农业动物基因组学与分子育种重点实验室, 广东 广州 510642;
2 广东医学院 基础医学院, 广东 湛江 524023; 3 东莞市畜牧科学研究所, 广东 东莞 523086)

摘要:运用实时荧光定量 PCR 技术,检测 *IGF2* 和 *H19* 印记基因在长白猪和蓝塘猪中的表达水平. 测定了 1 日龄和 180 日龄 2 个阶段的基因在各组织中的转录表达水平,按照生长性状分组,对组间的表达差异进行了比较分析. 分析不同日龄长白、蓝塘猪各组织中 *IGF2*、*H19* 的表达量. 结果显示,仔猪初生体重质量大的组肝脏组织中 *IGF2* 基因表达水平显著高于初生体重质量轻的组;180 日龄猪皮脂厚的组脂肪组织的 *IGF2* 基因表达量高于皮脂薄的组;1 日龄仔猪肝脏、肌肉和胃组织中 *IGF2* 表达量高于其他测定组织和 180 日龄的各组织;180 日龄蓝塘猪肾脏组织中的 *H19* 表达量显著升高.

关键词:猪; *IGF2* 基因; *H19* 基因; 基因表达水平; 生长性状; RT-PCR
中图分类号:Q756 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2013)03-0388-06

A Study of the mRNA Level of *IGF2* and *H19* in Landrace and Lantang Swine

WU Changli^{1,2}, XU Jiguo¹, WU Tongshan³, WEI Hengxi¹, LI Li¹, LI Zicong¹,
WU Zhenfang¹, ZHANG Shouquan¹
(1 Guangdong Provincial Key Laboratory of Agro-animal Genomics and Molecular Breeding, College of
Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;
2 School of Basic Medical Science, Guangdong Medical College,
Zhanjiang 524023, China; 3 Animal Science Institute of Dongguan, Dongguan 523086, China)

Abstract:In this study, the mRNA expression levels of imprinted gene *IGF2* and *H19* in Landrace and Lantang swine were investigated through real-time fluorescence quantitative PCR. The pigs were grouped according to growth traits. The relationships between mRNA expression levels with growth and reproductive traits were analyzed. The results showed the *IGF2* mRNA expression levels of liver in the heavy birth body mass group was higher than that of the light birth body mass group. When 180 days old, the *IGF2* mRNA expression levels of fat in the thick sebum group was higher than that of the thin sebum group. The *IGF2* mRNA expression levels of liver, muscle and stomach in 1 day old piglet were higher than those in other tissues. The *H19* mRNA expression levels of kidney in 180 days old Landrace pig increased significantly.

Key words:swine; *IGF2* gene; *H19* gene; gene expression level; growth traits; RT-PCR

胰岛素样生长因子 2 (Insulin-like growth factor 2, *IGF2*) 作为胰岛素样生长因子家族成员之一,在胎儿生长发育、肿瘤细胞增殖、肌肉生长和基因组印记等方面具有重要的调控作用,是影响猪胴体瘦肉率和背膘厚度的重要候选基因之一. 猪 *IGF2* 基因具有部分印记效应^[1]. 研究发现,向背膘厚的遗传选择会提高血浆 *IGF2* 浓度. 公猪在 15 ~ 23 周龄之间, *IGF2* 浓度与背膘厚度呈负相关^[2],预示 *IGF2* 可能是调节脂肪沉积的主要因子之一. 1986 年 Florini 等^[3] 提出 *IGF2* 是以浓度依赖的方式刺激肌纤维的增殖和分化.

H19 基因位于 *IGF2* 基因的下游,共有 5 个外显子,外显子碱基序列长度约 2.3 kb^[4]. *H19* 基因为只转录 RNA,不翻译成蛋白质的母方表达、父方缄默的印记基因. *H19* 是以 RNA 的形式发挥生理功能的^[4],一般认为 *H19* 参与了 *IGF2* 的表达调节^[5-6].

本研究以瘦肉型品种长白猪和脂肪型品种蓝塘猪为试验动物,运用实时荧光定量 PCR 技术,测定 1 日龄和 180 日龄 2 个阶段猪的印记基因 (*IGF2*、*H19*) 转录表达水平,观察其对主要内脏器官如肝脏、胃和肌肉等发育的影响,以及与背膘厚度等主要生长性状的关系,试图了解这 2 个基因对猪主要组织器官发育调控及其作用机理,为猪繁殖和生长性状的研究提供有益的探索.

1 材料与方法

1.1 材料

采取 1 日龄的长白、蓝塘猪 (各 6 头,每个品种 3 头公猪 3 头母猪) 各组织和 180 日龄的长白、蓝塘猪 (各 6 头,每个品种 3 头公猪 3 头母猪,公猪在 15 日龄时阉割) 各组织.

1.2 方法

1.2.1 猪的饲养与选择 本试验选用广东省东莞市板岭原种猪场同期怀孕的 6 头蓝塘母猪和 6 头长白母猪所产仔猪. 饲养试验期从 1 ~ 180 日龄. 试验猪按照猪场常规饲养方法饲养管理. 测定猪健康、生长发育正常、无外形缺陷和遗传疾患. 公猪均在 15 日龄阉割,母猪不阉割,28 d 断奶.

1.2.2 屠宰测定、样品采集和分组 1 日龄、180 日龄试验猪每品种各 6 头 (公母各 3 头),宰前绝食 12 h,仅供饮水. 称体质量后,屠宰,取肝脏、肌肉、胃和脂肪组织样,迅速保存到液氮中.

胴体质量、皮脂肪厚度和背膘厚度等指标的测定参照《GB/T8467—1987 瘦肉型种猪性能测定技术规程》.

试验猪按平均初生体质量、肝质量、胴体质量分别分为质量大、小组,按平均胸围宽度分为宽、窄组,按皮脂肪厚度、背膘厚度分别分为厚、薄组. 出生长白猪体质量 (1.98 ± 0.13) kg 设为初生体质量大组,体质量 (1.40 ± 0.06) kg 设为初生体质量小组,肝质量 (57.75 ± 0.32) kg 设为肝质量大组,肝质量 (42.33 ± 0.90) kg 设为肝质量小组,胸围宽 (29.67 ± 0.33) cm 设为胸围宽组,胸围 (25.33 ± 0.88) cm 设为胸围窄组,胴体质量 ($1\ 083.33 \pm 49.10$) g 设为胴体质量大组,胴体质量 (833.00 ± 46.67) g 设为胴体质量小组. 出生蓝塘猪体质量 (0.81 ± 0.02) kg 设为初生体质量大组,体质量 (0.70 ± 0.07) kg 设为初生体质量小组. 180 日龄长白猪皮脂肪 (2.80 ± 0.13) cm 设为皮脂肪厚组,皮脂肪 (2.40 ± 0.08) cm 设为皮脂肪薄组,背膘 (19.69 ± 1.18) mm 设为背膘厚组,背膘 (16.52 ± 0.33) mm 设为背膘薄组. 180 日龄蓝塘猪皮脂肪 (4.69 ± 0.26) cm 设为皮脂肪厚组,皮脂肪 (4.16 ± 0.07) cm 设为皮脂肪薄组,背膘 (26.48 ± 0.04) mm 设为背膘厚组,背膘 (24.76 ± 0.51) mm 设为背膘薄组,胴体质量 (37.27 ± 1.79) kg 设为胴体质量大组,胴体质量 (32.13 ± 1.01) kg 设为胴体质量小组,胸围 (88.00 ± 1.53) cm 设为胸围宽组,胸围 (82.67 ± 0.67) cm 设为胸围窄组.

1.2.3 RNA 抽提和反转录 总 RNA 的提取采用天根公司试剂盒,依据说明书进行. 该试剂盒在抽提过程中已经对其中的 DNA 进行处理. 以便进行后续试验.

1.2.4 引物的设计与合成 根据猪 *IGF2*、*H19* 基因的 DNA 序列以及 β -actin 基因的 cDNA 序列 (AY 550069),用 Primer Premier 5.0 软件设计定量 PCR 引物. 所有目的基因的引物均是跨外显子设计,*IGF2* 跨 7、8 外显子,*H19* 跨 2、3 外显子. 引物序列信息如表 1 所示. 引物由生工生物工程 (上海) 有限公司合成.

1.2.5 实时荧光定量 PCR 实时荧光定量 PCR 扩增总体系为 25 μ L,组成为 SYBR®Green I Realtime PCR Master Mix 12 μ L,Forward Primer (10 μ mol/L) 0.4 μ L,Reverse Primer (10 μ mol/L) 0.4 μ L,cDNA 模板 1 μ L,ddH₂O 11.2 μ L. 反应程序为:95 $^{\circ}$ C 预变性 60 s;95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 退火 15 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 15 s,83 $^{\circ}$ C 读板 45 s,循环 40 次.

表 1 荧光定量 RT-PCR 引物序列信息

Tab.1 The primers of real-time fluorescence quantitative PCR

目的基因	引物序列 5'--3'	产物长度/bp	t/℃	登录号
<i>β-actin</i>	F: CCACGTTACTACCTTCTTCTC	133	60	AY550069
	R: TGATCTCCTTCTGCATCCTGT			
<i>IGF2</i>	F: GCTCGTCTTCTTGGCCTTG	131	60	X56094
	R: CCGGCCTGCTGTTGTAGTT			
<i>H19</i>	F: TTCCTTGGAGGCTGTTCTGCT	110	60	AY044827
	R: ACGGTTTCTCATTTTGCCTTTAC			

1.2.6 数据统计分析 同品种不同日龄间样本数据和同日龄不同品种间样本数据的差异,运用独立样本 *t* 检验分析. 试验数据以平均值 ± 标准误表示,用 Excel 统计.

采用ΔΔCt 法来度量 *IGF2* 和 *H19* 基因的表达水平. 具体方法是每个样品的 Ct 均值减去对应样品的 *β-actin* 基因 Ct 均值,然后以同一品种某一组织作为参照,同理得到参照样品ΔCt 值,用其他样品组织的ΔCt 值减去参照样品组织的ΔCt 值得到各组织的ΔΔCt 值,即 ΔΔCt = 其他样品 ΔCt - 参照样品 ΔCt,最后将每个组织相对参照组织的表达量表示为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

2 结果与分析

2.1 同一猪种不同性状的基因表达差异分析

用ΔΔCt 法来度量 *IGF2* 基因在长白仔猪肌肉、肝脏、胃组织中表达差异,见表 2. 以初生体质量、肝质量、胸围宽以及胴体质量分组,长白仔猪肝脏 *IGF2* 基因 mRNA 表达量,由表 2 可见组间差异显著 ($P < 0.05$),质量大的组显著高于质量小的组,宽组显著高于窄组. 肌肉和胃组织的 *IGF2* 基因 mRNA 表达量,组间差异均不显著 ($P > 0.05$).

表 2 初生长白仔猪 *IGF2* 基因表达差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾

Tab.2 The mRNA levels of *IGF2* of new born Landrace pigs

组别	mRNA 表达量		
	肌肉	肝脏	胃组织
初生体质量大组	0.678 ± 0.261a	0.869 ± 0.123a	0.064 ± 0.020a
初生体质量小组	0.442 ± 0.207a	0.341 ± 0.133b	0.377 ± 0.312a
肝质量大组	0.677 ± 0.261a	0.869 ± 0.123a	0.064 ± 0.020a
肝质量小组	0.442 ± 0.206a	0.341 ± 0.133b	0.377 ± 0.312a
胸围宽组	0.678 ± 0.261a	0.869 ± 0.123a	0.064 ± 0.020a
胸围窄组	0.442 ± 0.207a	0.341 ± 0.133b	0.377 ± 0.312a
胴体质量大组	0.678 ± 0.261a	0.869 ± 0.123a	0.064 ± 0.020a
胴体质量小组	0.442 ± 0.207a	0.341 ± 0.133b	0.377 ± 0.312a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 3$, 同列相同性状比较, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05, t$ 检验).

用ΔΔCt 法来度量 *IGF2* 基因在蓝塘仔猪肌肉、肝脏、胃组织中表达差异,结果表明初生蓝塘仔猪肝脏 mRNA 表达量以初生体质量分组,组间差异显著 ($P < 0.05$),体质量大的组显著高于体质量小的组,详见表 3. 其他分组的各组织间的表达量差异均不显著 ($P > 0.05$).

表 3 初生蓝塘仔猪 *IGF2* 基因表达差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾

Tab.3 The mRNA levels of *IGF2* of new born Lantang pigs

组别	mRNA 表达量		
	肌肉	肝脏	胃组织
初生体质量大组	0.482 ± 0.239a	0.565 ± 0.099a	0.356 ± 0.174a
初生体质量小组	0.828 ± 0.149a	0.028 ± 0.017b	0.649 ± 0.286a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 3$, 同列数据后凡是有 一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05, t$ 检验).

180 日龄长白猪,以皮脂厚度、背膘厚度分组,分析组间 *IGF2* 基因在肌肉、肝脏及脂肪的表达差异,结果显示肌肉中 *IGF2* 基因的表达量,皮脂薄组高于皮脂厚组,背膘薄组高于背膘厚组;肝脏的表达量,皮脂厚组高于皮脂薄组;脂肪的表达量,皮脂厚组高于皮脂薄组,背膘薄组高于背膘厚组;差异均不显著 ($P > 0.05$). 详见表 4.

表 4 180 日龄长白猪 *IGF2* 基因表达差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾

Tab.4 The mRNA levels of *IGF2* of 180 days Landrace pigs

组别	mRNA 表达量		
	肌肉	肝脏	脂肪
皮脂脂肪厚组	0.123 ± 0.065a	0.790 ± 0.141a	0.258 ± 0.001a
皮脂脂肪薄组	0.375 ± 0.014a	0.671 ± 0.150a	0.136 ± 0.282a
背膘厚组	0.280 ± 0.010a	0.730 ± 0.141a	0.258 ± 0.111a
背膘薄组	0.470 ± 0.130a	0.732 ± 0.161a	0.436 ± 0.281a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 3$, 同列相同性状比较, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05, t$ 检验).

180 日龄蓝塘猪,以皮脂厚度、背膘厚度、胴体质量和胸围宽度分组,分析组间 *IGF2* 基因在肌肉、肝脏和脂肪的表达差异,结果显示肌肉中 *IGF2* 基因的表达式量,胸围宽组显著高于胸围窄组 ($P < 0.05$);肝脏中的表达式量,皮脂肪厚组显著高于皮脂肪薄组 ($P < 0.05$);脂肪中的表达式量,背膘厚组和胴体质量大组显著高于背膘薄组和胴体质量小组 ($P < 0.05$). 见表 5.

表 5 180 日龄蓝塘猪 *IGF2* 基因表达差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾
Tab.5 The mRNA levels of *IGF2* of 180 days Lantang pigs

组别	mRNA 表达量		
	肌肉	肝脏	脂肪
皮脂肪厚组	0.445 ± 0.227a	0.432 ± 0.283a	0.551 ± 0.367a
皮脂肪薄组	0.560 ± 0.041a	0.074 ± 0.030b	0.171 ± 0.367a
背膘厚组	0.384 ± 0.186a	0.802 ± 0.038a	0.550 ± 0.367a
背膘薄组	0.562 ± 0.238a	0.424 ± 0.228a	0.171 ± 0.036b
胴体质量大组	0.384 ± 0.186a	0.082 ± 0.038a	0.550 ± 0.367a
胴体质量小组	0.562 ± 0.238a	0.424 ± 0.228a	0.171 ± 0.036b
胸围宽组	0.710 ± 0.150a	0.110 ± 0.030a	0.163 ± 0.051a
胸围窄组	0.170 ± 0.019b	0.400 ± 0.030a	0.429 ± 0.286a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 3$, 同列相同性状比较, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05$, t 检验).

2.2 各基因在相同时期不同猪种的表达式量差异分析

2.2.1 *IGF2* 基因 由表 6 可见,1 日龄的长白、蓝塘猪以猪品种分组,*IGF2* 基因在肝脏、胃组织和肌肉组织的表达式量组间差异不显著 ($P > 0.05$).

表 6 1 日龄长白、蓝塘猪的 *IGF2* 基因表达式量差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾
Tab.6 The mRNA levels of *IGF2* of new born Landrace and Lantang pigs

猪品种	mRNA 表达量		
	肌肉	肝脏	胃
长白	0.659 ± 0.150a	0.720 ± 0.123a	0.625 ± 0.158a
蓝塘	0.710 ± 0.078a	0.674 ± 0.129a	0.579 ± 0.161a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 6$, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05$, t 检验).

由表 7 可见,180 日龄长白、蓝塘猪以猪品种分组,*IGF2* 基因在胃组织的表达式量,长白猪显著高于蓝塘猪 ($P < 0.05$). 肌肉、肝脏和脂肪组织 *IGF2* 基因表达式量组间差异不显著 ($P > 0.05$).

表 7 180 日龄长白、蓝塘猪的 *IGF2* 基因表达式量差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾
Tab.7 The mRNA levels of *IGF2* of 180 days Landrace and Lantang pigs

猪品种	mRNA 表达量			
	肌肉	肝脏	胃	脂肪
长白	0.195 ± 0.125a	0.242 ± 0.031a	0.295 ± 0.106a	0.093 ± 0.038a
蓝塘	0.113 ± 0.035a	0.081 ± 0.019a	0.120 ± 0.016b	0.322 ± 0.156a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 6$, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05$, t 检验).

2.2.2 *H19* 基因 由表 8 可见,1 日龄长白、蓝塘猪以猪品种分组,基因 *H19* 在各组织的表达式量差异不显著 ($P > 0.05$).

表 8 1 日龄长白、蓝塘猪的 *H19* 基因表达式量差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾
Tab.8 The mRNA levels of *H19* of new born Landrace and Lantang pigs

猪品种	mRNA 表达量		
	肌肉	肝脏	胃
长白	0.316 ± 0.150a	0.388 ± 0.126a	0.403 ± 0.152a
蓝塘	0.417 ± 0.178a	0.420 ± 0.140a	0.385 ± 0.048a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 6$, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05$, t 检验).

由表 9 可见,180 日龄长白、蓝塘猪以猪品种分组,*H19* 基因在各组织的表达式量差异不显著 ($P > 0.05$).

表 9 180 日龄长白、蓝塘猪的 *H19* 基因表达式量差异分析 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)¹⁾
Tab.9 The mRNA levels of *H19* of 180 days Landrace and Lantang pigs

猪品种	mRNA 表达量			
	肌肉	肝脏	胃	脂肪
长白	0.518 ± 0.204a	0.592 ± 0.113a	0.477 ± 0.065a	0.590 ± 0.143a
蓝塘	0.555 ± 0.144a	0.545 ± 0.105a	0.500 ± 0.126a	0.417 ± 0.130a

1) 表中数据为平均值 ± 标准误, $n = 6$, 同列数据后凡是有一个相同小写字母者, 表示差异不显著 ($P > 0.05$, t 检验).

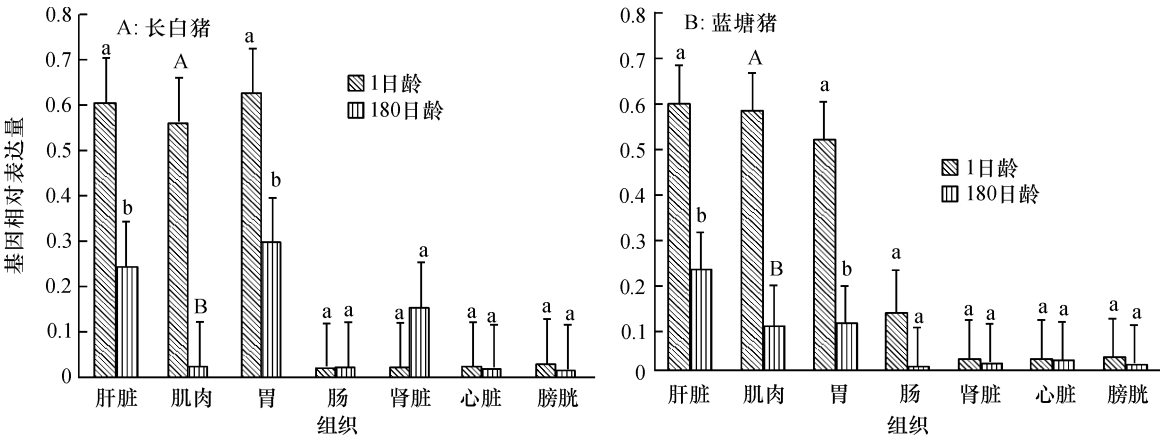
2.3 各基因的组织表达式量

用 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 技术分析不同日龄长白、蓝塘猪各组织中 *IGF2*、*H19* 基因的表达式量,结果见图 1、图 2.

图 1 显示,*IGF2* 基因在 1 日龄的长白和蓝塘猪各组织中均有不同程度的表达,其中肝脏、肌肉和胃

组织表达量高于其他测定组织;除了长白猪的肾脏组织外,在 180 日龄的长白和蓝塘猪各组织的 *IGF2* 基因

的表达量都比 1 日龄相应品种猪组织有降低,且肝脏、肌肉和胃组织中的表达量较 1 日龄时明显降低.

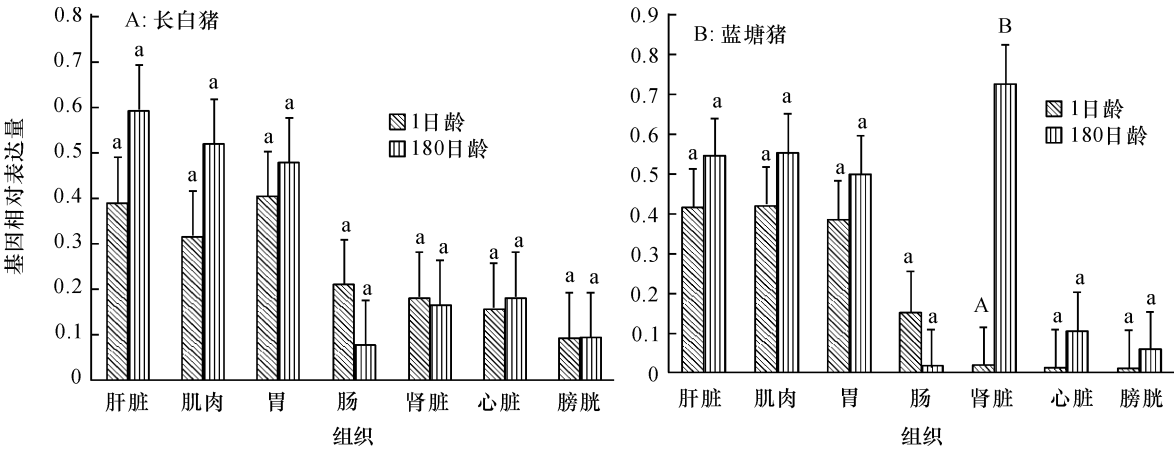


图中误差线为标准误;柱上凡有一个相同小写字母者,表示同一组织不同日龄间差异不显著($P>0.05$),柱上凡有一个相同大写字母者,表示同一组织不同日龄间差异极不显著($P>0.01$), t 检验.

图 1 长白、蓝塘猪 *IGF2* 基因的各组织表达量

Fig. 1 The mRNA expression of *IGF2* of Landrace and Lantang pigs

图 2 显示 *H19* 基因 mRNA 在 1 日龄的长白猪各组织中均有不同程度的表达;180 日龄的长白猪的肠和肾脏组织 *H19* 基因 mRNA 表达量较 1 日龄的降低,其余测定组织的表达均高于 1 日龄的. 蓝塘猪的 *H19* 基因 mRNA 表达量除肠组织的为 1 日龄高于 180 日龄外,其余测定组织的均为 180 日龄的表达量高于 1 日龄的表达量;其中肾脏组织的显著升高.



图中误差线为标准误;柱上凡有一个相同小写字母者,表示同一组织不同日龄间差异不显著($P>0.05$),柱上凡有一个相同大写字母者,表示同一组织不同日龄间差异极不显著($P>0.01$), t 检验.

图 2 长白、蓝塘猪 *H19* 基因的各组织表达量

Fig. 2 The mRNA expression of *H19* of Landrace and Lantang pigs

3 讨论

实时荧光定量 PCR 技术是在 PCR 技术基础上发展起来的一种高度灵敏的核酸定量技术. 与传统 PCR 相比,实时定量 PCR 能够更加快速、灵敏,并有效地对核酸进行定量检测. 为排除残留 DNA 对定量结果的影响,除了在 RNA 抽提的过程中用 DNA 酶 I 对样品进行了处理,本试验所有引物均是跨外显子

设计. 本试验采用 β -actin 作为内参照基因,以此来消除 RNA 提取效率、逆转录及扩增效率的差异,从而得到了准确可靠的结果.

IGF2 基因内含子多态性位点的基因型间脂肪沉积和背膘厚差异显著^[7-9]; *IGF2* 基因外显子多态性位点的基因型间初生质量和背膘厚差异显著^[10];表明 *IGF2* 是影响脂肪沉积性状的候选基因. 本试验中,以背膘厚度和皮脂厚度分组,180 日龄的长白和蓝塘猪

的肌肉组织中 *IGF2* 基因的表达量都呈现一致的趋势,与背膘厚度和皮脂厚度均呈现负相关,和前人结果相一致^[2],再次提示 *IGF2* 可能是调节脂肪沉积的因子之一. 无论是长白还是蓝塘猪在 180 日龄后肌肉、肝脏和胃组织中 *IGF2* 基因的 mRNA 表达量都显著下降,说明 *IGF2* 在猪早期的肌肉组织、肝脏和胃的生长发育方面起着重要的作用. Stinckens 等^[11] 研究长大猪出生后 4、8、16 和 26 周龄时不同肌肉组织的 *IGF2* 基因的 mRNA 表达量的发育性变化,结果表明,从 4~26 周龄,全部基因型的肌肉组织,其表达量均出现下降趋势. 以上研究进一步验证了本研究结果的可靠性. 本试验中 1 日龄和 180 日龄长白和蓝塘猪的肠、肾脏和心脏等组织的 *IGF2* 基因的 mRNA 表达量无显著的差异,这与侯冠彧等^[12] 研究显示五指山猪 8 种组织从 30~150 日龄 *IGF2* 基因的表达量随着日龄的增加呈逐渐下降的趋势的结果不甚一致,这是否因品种不同导致的,还有待进一步的验证.

H19 基因是与 *IGF2* 呈相互印记的一个基因. *H19* 基因的母方表达可以通过抑制母源染色体得到转录而降低 *IGF2* 的含量. 当 *H19* 基因失活后,雌性胎儿出生时的体质量比正常胎儿高 27%^[13]. 试验结果显示 180 日龄的长白猪各组织中 *H19* 基因的 mRNA 表达量与 1 日龄相比除肠和肾脏组织中的表达量降低外,其他组织的表达量均上升,与 Thorvaldsen 等^[14] 研究所说的胎儿中高表达出生后表达受到显著抑制不一致,结果有待进一步验证. 180 日龄的蓝塘猪各组织中 *H19* 基因的 mRNA 表达量与 1 日龄相比除肠组织的表达量降低外,其他组织的表达量均上升,其中以肾脏组织的上升最为显著. 推测其可能参与蓝塘猪的肾脏成年后的生理变化,可能是蓝塘猪与长白猪繁殖性能差异的原因之一.

综上所述,本研究通过比较长白猪和蓝塘猪不同发育时期 *IGF2*、*H19* 基因的表达变化,证实 *IGF2*、*H19* 基因对猪脂肪沉积和生长发育有一定的影响,为 *IGF2* 和 *H19* 基因作为分子育种标记基因用于分子辅助育种提供了有益的探索.

参考文献:

[1] LI Chao, BIN Yanfang, CURCHOE C, et al. Genetic imprinting of *H19* and *IGF2* in Domestic pigs (*Sus scrofa*) [J]. Anim Biotechnol, 2008, 19(1): 22-27.

[2] OWENS P C, GATFORD K L, WALTON P E, et al. The relationship between endogenous insulin-like growth factors

and growth of pigs[J]. J Anim Sci, 1999, 77(8): 2098-2103.

[3] FLORINI J R, EWTON D Z, FALEN S L, et al. Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins[J]. Am J Physiol, 1986, 250(5Pt1): C771-C778.

[4] AYESH S, MATOUK I, SCHNEIDER T, et al. Possible physiological role of *H19* RNA[J]. Mol Carcinog, 2002, 35(2): 63-74.

[5] HARK A T, SCHOENHERR C, KATZ D J, et al. CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the *H19/Igf2* locus[J]. Nature, 2000, 405(6785): 486-489.

[6] BELL A C, FELSENFELD G. Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the *Igf2* gene[J]. Nature, 2000, 405(6785): 482-485.

[7] 刘桂兰, 蒋思文, 熊远著, 等. *IGF2* 基因 PCR-RFLP 多态性与脂肪沉积相关性状的关联分析[J]. 遗传学报, 2003, 30(12): 1107-1112.

[8] 虞德兵, 熊锴, 张宇霞, 等. 猪 *IGF2* Intron3 G3072A 突变及其在背最长肌中差异表达[J]. 南京农业大学学报, 2010, 33(6): 105-109.

[9] OCZKOWICZ M, TYRA M, WALINOWICZ K, et al. Known mutation (A3072G) in intron 3 of the *IGF2* gene is associated with growth and carcass composition in Polish pig breeds[J]. J Appl Genet, 2009, 50(3): 257-259.

[10] 薛慧良, 徐来祥. 猪 *IGF2* 基因外显子 3 的遗传多态性及遗传效应分析[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2008, 24(7): 643-648.

[11] STINCKENS A, VAN DEN MAAGDENBERG K, LUYTEN T, et al. The RYR1 g. 1843C > T mutation is associated with the effect of the *IGF2* intron3-g. 3072G > A mutation on muscle hypertrophy[J]. Anim Genet, 2007, 38(1): 67-71.

[12] 侯冠彧, 周汉林, 王东劲, 等. 五指山猪 8 种组织 *IGF2* 和 *IGFBP3* 基因表达的发育性变化研究[J]. 家畜生态学报, 2010, 31(5): 8-12.

[13] LEIGHTON P A, INGRAM R S, EGGENSCHWILER J, et al. Disruption of imprinting caused by deletion of the *H19* gene region in mice[J]. Nature, 1995, 375(6526): 34-39.

[14] THORVALDSEN J L, DURN K L, BARTOLOMEI M S. Deletion of the *H19* differentially methylated domain results in loss of imprinted expression of *H19* and *Igf2*[J]. Genes Dev, 1998, 12(23): 3693-3702.