

## 催乳素基因5-调控区24-bp插入/缺失变异与非就巢鸡 血浆催乳素水平及产蛋性能的关系

姜润深<sup>1,2</sup> 徐桂云<sup>2</sup> 李俊英<sup>2</sup> 王晓亮<sup>2</sup> 杨宁<sup>2</sup>

(1. 安徽农业大学 动物科技学院,合肥 230036; 2. 中国农业大学 动物科学技术学院,北京 100094)

**摘要** 以笼养绿壳蛋鸡和农大3号矮小型蛋鸡为试验材料,探索蛋鸡在非就巢状态下催乳素基因5-调控区24-bp插入/缺失(-377~-354 bp)变异与血浆PRL水平和产蛋性能的关系。结果表明,该位点不同基因型(PRL+/+、+/-和-/-型)对非就巢蛋鸡300日龄前的血浆PRL水平和300日龄(40周龄)产蛋性能均无显著影响( $P>0.05$ ),表明鸡在非就巢状态下,PRL调控区的24-bp插入/缺失变异与早期血浆PRL水平和产蛋性能无直接关系。

**关键词** 鸡;催乳素基因;变异;催乳素水平;产蛋性能

中图分类号 S831.1

文章编号 1007-4333(2007)03-0046-03

文献标识码 A

### Associations of 24-bp Indel in PRL 5-region with serum PRL level and laying performance in non-broody chickens

Jiang Runshen<sup>1,2</sup>, Xu Guiyun<sup>2</sup>, Li Junying<sup>2</sup>, Wang Xiaoliang<sup>2</sup>, Yang Ning<sup>2</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract** In the present study, caged Blue-shell chickens and Nongda 3 (dwarf layers) were used to identify the association of the 24-bp Indel(-377~-354 bp) in PRL 5-region with serum PRL level and laying performance in non-broody chickens. The results showed no significant differences ( $P>0.05$ ) in genotypes (PRL +/+, +/-, and -/-) and serum PRL level prior to 300 d of age as well as laying performance at 300 d (40 wks), indicating that the 24-bp Indel had no direct effects on early serum PRL level and laying performance in non-broody chickens.

**Key words** chicken; prolactin gene; indel; PRL level; laying performance

催乳素(prolactin, PRL)是动物垂体前叶嗜酸细胞分泌的多肽类激素,对哺乳动物乳腺发育和泌乳、调节卵巢功能、维持妊娠、机体免疫等有重要的生物学效应<sup>[1]</sup>。在家禽中,PRL是就巢发生和维持的关键激素<sup>[2]</sup>,血浆PRL浓度上升到一定的程度可引发禽的就巢<sup>[3]</sup>。高水平的PRL可以直接抑制卵巢卵泡的发育和垂体促性腺激素的分泌,导致血液促黄体激素(LH)水平下降,下丘脑促性腺激素释放激素GnRH(和型)的合成减少,使得卵巢萎缩,排卵停止,最终停止产蛋维持就巢<sup>[4-5]</sup>。

近年来国内外对鸡PRL基因做了大量的研究工作。研究表明,鸡PRL基因定位于2号染色体,并确定其由5个外显子和4个内含子组成,全长超过6 kb,PRL cDNA全长953 bp<sup>[6]</sup>,不同品种鸡的PRL cDNA有一定的差异,主要是5、3和编码信号肽的区域差异较大<sup>[7]</sup>。在PRL基因多态性及其与家禽繁殖性状关系的研究中,发现鸡PRL基因存在基因变异<sup>[8-13]</sup>。笔者研究表明,鸡PRL基因5-调控区(-377~-354 bp)的24-bp的插入/缺失变异(产生3种基因型:-/-、+/-和+/+分别代

收稿日期:2006-12-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30600431)

作者简介:姜润深,博士,副教授,主要从事家禽遗传育种研究,E-mail:jiangrunshen@ahau.edu.cn;杨宁,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事家禽遗传育种研究,E-mail:nyang@cau.edu.cn

表缺失型、杂合型和插入型) 对就巢性状有着显著 ( $P < 0.05$ ) 的遗传效应, 并认为 *PRL* 基因可能是影响鸡就巢性状的主效基因之一<sup>[14]</sup>。

在 *PRL* 基因和其他相关基因的作用下引发鸡的就巢, 进而影响母鸡的产蛋性能。然而在非就巢状态下, 鸡 *PRL* 基因 5-调控区 24-bp 的插入/缺失变异对母鸡血浆 *PRL* 水平和产蛋性能的关系尚不清楚。本研究旨在进一步探索母鸡在非就巢状态下, 该 24-bp 插入/缺失变异与血浆 *PRL* 水平和产蛋性能的关系, 为阐明该变异影响鸡产蛋性能和就巢性的机理奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与测定性状

试验鸡群 1: 选择东乡绿壳蛋鸡作为我国地方鸡种类型的代表。群体样本量  $n = 300$ , 产蛋期间个体笼养, 常规饲养管理; 产蛋期间饲料营养水平: 粗蛋白 CP 16.5% (质量分数) 和代谢能 ME 11.08 MJ/kg。记录母鸡 300 日龄产蛋量, 40 周龄平均蛋重; 翅下静脉采集 26、30、34、38 和 42 周龄血样 3 mL, 并分别测定血浆 *PRL* 浓度水平。血浆 *PRL* 测定所用个体数分别为: -/- 型 30 只、+/- 型 30 只、+/+ 型 12 只; 血浆 *PRL* 水平的测定采用放射免疫测定法 (radioimmunoassay, RIA), 测定试剂盒由 Dr. A P Parlow (National Institute of Arthritis, Diabetes, Digestive and Kidney Diseases, USA) 提供, 经测定批内变异系数为 4.5%。RIA 由中国农

科院原子能所测定。

试验鸡群 2: 选择农大 3 号矮小型蛋鸡作为高产蛋鸡类型的代表。群体样本量  $n = 668$ , 个体笼养, 饲养管理参照节粮型蛋鸡饲养管理手册<sup>[15]</sup>。测定非就巢蛋鸡的开产日龄、开产蛋重、20 周龄体重和 40 周龄产蛋量。

### 1.2 基因型鉴定

*PRL* 5-调控区 24-bp 的插入/缺失变异基因型鉴定参考 Jiang 等<sup>[14]</sup> 方法。

### 1.3 统计分析

性状的基因型间差异采用单因子方差分析方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 笼养绿壳蛋鸡 *PRL* 基因型与血浆 *PRL* 水平和产蛋性状的关系

在试验期内笼养绿壳蛋鸡发生过就巢的有 23 只, 未发生就巢的 277 只。尽管笼养绿壳蛋鸡非就巢 +/+ 型鸡 40 周龄或 300 日龄产蛋量比其他基因型分别高出约 3 枚, 但 *PRL* 24-bp 插入/缺失变异对早期产蛋性能 (40 周龄平均蛋重和 300 日龄产蛋量) 无显著影响 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 还揭示了不同基因型的笼养绿壳蛋鸡开产后血浆 *PRL* 动态变化规律。随着产蛋期的推移, 血浆 *PRL* 水平总体呈上升趋势, 产蛋初期上升较快, 在产蛋达到高峰期以后, 维持在相对稳定的水平。就同一周龄而言, 不同基因型鸡血浆 *PRL* 水平差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 1 不同 *PRL* 基因型笼养绿壳蛋鸡的血浆 *PRL* 水平和产蛋性状\*

Table 1 Serum *PRL* levels and egg production traits among genotypes at *PRL* locus in Blue-shell chickens under the cage system

基因型	n	血浆 <i>PRL</i> 水平/ (ng/ mL)					蛋重 / (g/ 枚)	蛋量 / 枚
		26 周龄	30 周龄	34 周龄	38 周龄	42 周龄		
<i>PRL</i> - / -	30	6.19 ±1.81	18.76 ±3.03	16.55 ±2.76	19.88 ±2.72	17.10 ±3.87	52.1 ±4.48 (n = 173)	72.4 ±17.1 (n = 173)
<i>PRL</i> + / -	30	6.37 ±1.74	20.65 ±4.72	18.12 ±4.28	21.26 ±4.17	18.32 ±4.89	51.1 ±4.53 (n = 92)	71.7 ±17.9 (n = 92)
<i>PRL</i> + / +	12	6.39 ±1.07	18.63 ±5.36	16.96 ±3.69	19.82 ±3.35	16.62 ±3.42	50.8 ±4.32	75.1 ±8.4

注: \*平均数 ±标准差; 下同。 为 40 周龄产; 为 300 日龄产。

### 2.2 农大 3 号矮小型蛋鸡 *PRL* 基因型与产蛋性状的关系

农大 3 号矮小型蛋鸡试验期间均未发生过就巢

现象。由表 2 可知, 农大 3 号矮小型蛋鸡 *PRL* 不同基因型在开产日龄、开产蛋重、开产体重和 40 周龄产蛋量等指标上均未达到显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表2 农大3号矮小型蛋鸡不同 PRL 基因型与产蛋性状的关系

Table 2 Association of PRL genotypes with egg production traits in dwarf layers

基因型	n	20 周龄体重/g	开产蛋重/g	开产日龄/d	40 周龄产蛋量/枚
PRL - / -	463	1 265.8 ±166.6	33.1 ±3.6	147.2 ±8.8	106.7 ±21.8
PRL + / -	192	1 223.1 ±164.7	32.7 ±3.1	147.7 ±8.3	105.3 ±20.7
PRL + / +	13	1 198.6 ±81.1	32.8 ±4.2	150.2 ±8.0	108.9 ±16.6

### 3 讨论

1) 崔建勋等以中国农业大学丝农大褐 ×羽乌骨鸡参考家系作为材料<sup>[10]</sup>, 分析了 PRL 调控区的 24-bp 插入/缺失变与产蛋性能的关系, 结果表明该插入/缺失变异对鸡 300 日龄和 500 日龄产蛋量的影响并不显著 ( $P > 0.05$ )。本研究分别在笼养绿壳蛋鸡和农大 3 号矮小型蛋鸡群体中分析 PRL 24-bp 插入/缺失变异和产蛋性状的关系, 结果同样显示基因型对早期产蛋性状(300 日龄产蛋量、40 周龄产蛋量等)无显著影响。

2) 笔者前期的相关研究表明, 鸡 PRL 24-bp 插入/缺失位点的不同基因型就巢性差异显著 ( $P < 0.05$ )<sup>[14]</sup>。众所周知, 鸡就巢性的强弱与产蛋性能有密切的关系; 而本研究结果显示, 蛋鸡在非就巢状态下, PRL 调控区的 24-bp 插入/缺失变异与早期血浆 PRL 水平和产蛋性能无直接关系, 因此, 不难推断, PRL 24-bp 插入/缺失变异并非直接影响鸡的产蛋性能, 而是通过影响鸡就巢性的表现, 间接地影响产蛋性能。

3) 笼养绿壳蛋鸡 PRL + / +、+ / - 和 - / - 型鸡血浆 PRL 水平在不同时间点上比较接近。这表明蛋鸡在非就巢状态下, 插入/缺失变异对正常的 PRL 分泌量无显著影响。结合前期的研究结果, 即 + / + 型鸡基本不发生就巢<sup>[14]</sup>, 笔者推测, 在 PRL 基因表达调控的上游可能存在另外的调控因子, 不同 PRL 基因型对这些调控因子的反应不一样, + / + 型无显著反应, 而 + / - 和 - / - 型在这些调控因子的作用下, 表达可以迅速上调, 这些调控因子可能就是影响蛋鸡就巢性的其他主效基因, 今后需进一步深入研究。

### 参 考 文 献

[1] Christine B F, Vincent G, Marc E, et al. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice[J]. *Endocr Rev*, 1998, 19: 225-268

[2] Elkins P A, Christinger H W, Sandowski Y, et al. Ternary complex between placental lactogen and the extracellular domain of the prolactin receptor [J]. *Nat Struct Biol*, 2000, 7: 808-815

[3] B éarrats G, Gu énen éD, K únlein U, et al. Changes in levels of immunoreactive prolactin isoforms during a reproductive cycle in turkey hens [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1999, 113: 96-104

[4] Peter J S, Alistair D, Robert W L. Control of luteinizing hormone and prolactin secretion in birds [J]. *Comp Biochem Physiol*, C 1998, 119: 275-282

[5] Donna L M, Stephan J S, Peter J S, et al. Effects of vasoactive intestinal peptide on plasma prolactin in passerines[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1999, 113: 323-330

[6] Miao Y M, Burt D W. Mapping of the prolactin gene to chicken chromosome 2[J]. *Anim Genet*, 1999, 30: 462-478

[7] 周敏, 张细权, 施振旦, 等. 三个品种家鸡催乳素基因 cDNA 的克隆及序列分析[J]. *遗传学报*, 2001, 28: 614-620

[8] 额尔和花, 詹慧琴, 张淑君, 等. 鸡催乳素基因外显子中的 SNP 检测[C] 第十一次全国家禽学术讨论会论文集. 青岛: 中国农业科学技术出版社, 2003: 23-26

[9] 詹慧琴, 额尔和花, 张淑君, 等. 鸡催乳素基因内含子 2 RFLP 检测及与产蛋性能关系的初步研究[C] 第十一次全国家禽学术讨论会论文集. 青岛: 中国农业科学技术出版社, 2003: 30-32

[10] 崔建勋, 梁勇, 邓学梅, 等. 鸡催乳素基因 5 侧翼调控区近端启动子序列多态性及其与产蛋性能的关系 [C] 第十一次全国家禽学术讨论会论文集. 青岛: 中国农业科学技术出版社, 2003: 33-36

[11] 梁勇. 鸡催乳素基因 5 端侧翼序列多态性[D]. 广州: 华南农业大学, 2002

[12] 梁勇. 鸡催乳素基因多态性及其与就巢行为的关系 [D]. 广州: 华南农业大学, 2005

[13] Liang Y, Cui J, Yang G, et al. Polymorphisms of 5 flanking region of chicken prolactin gene [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2006, 30(1): 1-16

[14] Jiang R, Xu G, Zhang X, et al. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens[J]. *Poult Sci*, 2005, 84: 839-845

[15] 宁中华. 节粮型蛋鸡饲养管理技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2006