

吉富罗非鱼 *IGF2* 基因分离及其单核苷酸多态性与体型、增重相关性

陈雪峰^{①②} 杨国梁^② 俞菊华^{③*} 唐永凯^③ 李建林^③ 李红霞^③

(^① 南京农业大学 无锡渔业学院 无锡 214081;

^② 浙江省淡水水产研究所 浙江南太湖淡水水产种业有限公司 湖州 313001;

^③ 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室 无锡 214081)

摘要: 胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor 2, IGF2) 是控制动物生长和脂肪沉积的重要基因之一。本文采用 PCR 方法分离了吉富罗非鱼 (GIFT strain Nile tilapia *Oreochromis niloticus*) *IGF2* 基因 5 475 bp, 包含由 4 个外显子组成的整个阅读框 669 bp 以及 3 个内含子。通过比对吉富罗非鱼 10 个个体的 *IGF2* 序列, 共发现 11 处单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点, 本文检测了内含子 1 的 621 nt (C/T) 和外显子 3 的 161 nt (A/G) 两位点在 192 尾吉富罗非鱼中的基因型分布, 并分析不同基因型与体型、增重的相关性。使用四引物扩增受阻体系 PCR 检测内含子 1 的 621 nt 基因型, 结果显示, CC、CT、TT 基因型频率在雄鱼中分别为 0.32、0.32、0.36, 在雌鱼中分别为 0.38、0.38、0.24; 与体型、增重的相关性分析表明, 此位点不同基因型只与雄鱼体型 (体高/体长) 显著相关 ($P < 0.05$), CC 型个体显著高于 CT 和 TT 型个体。外显子 3 的 A/G 转换导致了 *MSP I* 酶切位点改变, 使用 PCR-RFLP 法检测该位点基因型, 结果显示整个群体中不存在 AA 基因型, 在雄鱼中, GG、AG 基因型频率分别为 0.71、0.29, 而雌鱼中则为 0.75 和 0.25; 与体型、增重的相关性分析表明, 此位点不同基因型只与雄鱼增重极显著相关 ($P < 0.01$), GG 型的雄鱼明显较 AG 型增重快。

关键词: 吉富罗非鱼; 胰岛素样生长因子 2; 单核苷酸多态性; 基因型; 体型; 增重; 相关性

中图分类号: Q781 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2010) 02-107-08

Isolation of *IGF2* Gene and Correlation of Its SNPs with Fish Sharp and Weight Gain in GIFT Strain Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*

CHEN Xue-Feng^{①②} YANG Guo-Liang^② YU Ju-Hua^{③*}

TANG Yong-Kai^③ LI Jian-Lin^③ LI Hong-Xia^③

(^① Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081;

^② Zhejiang Institute of Freshwater Fishers and Zhejiang South Tai-lake Freshwater Fish Breeding Co., Ltd., Huzhou 313001;

^③ Key Laboratory of Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

基金项目 国家科技基础条件平台项目 (No. 2007DKA30470_003), 江苏省自然科学基金项目 (No. BK2006029), 基本科研业务费专项资金 (No. 2009JBF05, 2009JBFC02);

* 通讯作者, E-mail: yujh@ffre.cn;

第一作者介绍 陈雪峰, 男, 硕士; 研究方向: 水产动物遗传育种; E-mail: chenfenghailan@126.com.

收稿日期: 2009-07-01, 修回日期: 2009-10-29

Abstract: Insulin-like growth factor 2 gene was one of important genes controlling muscle growth and fat deposition in animals. In this study, we isolated 5 475 bp *IGF2* including complete coding sequence 669 bp which interrupted by 3 introns and encoded 222 amino acids from GIFT strain Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Total eleven SNPs were found at GIFT strain Nile Tilapia *O. niloticus* *IGF2* exons and introns through comparing sequences from 10 individuals. The genotypes of intron 1 621 nt and exon 3 161 nt were studied and the correlation of fish shape, weight gain with different genotypes were analyzed in this paper. Tetra-primers ARMS was performed to detect the SNP locus at 621 nt (C/T) of intron 1. The results indicated that the frequencies of CC, CT and TT were 0.32, 0.32 and 0.36 in male population, and 0.38, 0.38 and 0.24 in female population respectively; there was only a remarkable correlation between different genotypes with male GIFT strain Nile tilapia *O. niloticus* body shape (height/length) ($P < 0.05$), CC individuals were significantly higher than CT and TT individuals. The SNP locus at 167 nt (A/G) of exon3 was a nonsense mutation but it changed the restriction site of *Msp* I. So PCR-RFLP was used to detect the genotypes, only GG and AG individuals were found, with the frequencies of GG and AG 0.71 and 0.19 in male population and 0.75 and 0.25 in female population respectively; there was only a remarkable correlation between different genotypes with male GIFT strain Nile tilapia *O. niloticus* weight gain ($P < 0.01$), GG individuals were obviously higher than AG ones.

Key words: GIFT strain Nile tilapia *Oreochromis niloticus*; Insulin-like growth factor 2; SNP; Genotype; Sharp; Weight gain; Correlation

胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factors, IGFs) 是生长激素 (growth hormone, GH) 发挥作用的介质, 主要在肝中合成, 与 IGF 结合蛋白 (IGF binding protein, IGFBP) 结合后分泌至循环系统, 运送至各靶组织、细胞, 与 IGF 受体 (IGFR) 结合行使功能^[1]。IGFs 具有促进有丝分裂、诱导细胞分化、调节生长等作用^[2]。IGFs 有两种同源多肽, IGF1 和 IGF2。其中 IGF2 由 67 个氨基酸组成, 在胎儿生长发育、肿瘤细胞增殖、肌肉生长等方面具有重要调控作用^[3-4]。鱼类 IGF2 研究报道较多, 已分离了大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*)、银大麻哈鱼 (*O. kisutch*)、虹鳟 (*O. mykiss*)、莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossabica*)、尼罗罗非鱼 (*O. nilotica*)、澳洲肺鱼 (*Neoceratodus forsteri*)、斑马鱼 (*Danio rerio*) 等鱼的 *IGF2* cDNA 序列^[5]; 组织表达分析结果表明 *IGF2* 基因在鱼类鳃、肾、肠、心、脑和性腺等组织均有表达^[6]; 注射 *IGF2* 的罗非鱼体重比对照组增加 72%^[7]。

SNP (single nucleotide polymorphism), 即单核苷酸多态性, 它作为一类遗传标记以其信息丰富、遗传稳定等特性得以广泛应用^[8]。候选基因法是一种常用的从 DNA 水平寻找与数量性状相

连锁的方法之一, 动物许多生长性状为数量性状, 其遗传基础受多基因控制, 存在主基因效应^[9]。在鱼类中, 将 *IGF2* 作为主效功能基因, 研究其单核苷酸多态 (SNPs) 与生长性状的相关性, 尚未见报道, 而在畜禽中, 相关研究较多^[10-15], 并且这些标记已经用来辅助畜禽的育种。

吉富罗非鱼 (GIFT strain Nile tilapia *O. niloticus*) 是遗传性状改良后的罗非鱼, 由国际水生生物资源管理中心等机构通过对 4 个非洲原产地直接引进的尼罗罗非鱼品系 (埃及、加纳、肯尼亚、塞内加尔) 和 4 个在亚洲养殖比较广泛的尼罗罗非鱼品系 (以色列、新加坡、泰国、中国台湾) 经混合选育获得的优良品系, 具有生长快、产量高等优点^[16]。本文分离了吉富罗非鱼 *IGF2* 基因, 包括整个阅读框以及 3 个内含子, 通过比对 10 个个体的序列, 确定其 SNPs 位点, 并使用四引物扩增受阻突变体系 PCR 法 (tetra-primer PCR method and the amplification refractory mutation system, Tetra-primers ARMS) 和 PCR-RFLP 法检测 192 尾吉富罗非鱼 *IGF2* 基因型, 分析了不同基因型与体型、增重的相关性, 以期能为今后的吉富罗非鱼育种工作提供可靠的分子辅助标记。

1 材料与方法

1.1 材料 吉富罗非鱼共 192 尾(雄鱼 90 尾, 雌鱼 102 尾)取自中国水产科学研究院无锡淡水渔业研究中心宜兴养殖基地。该批实验鱼于 2006 年 6 月 28 日出苗,在相同的环境下养殖至能够打上 PIT 标记时测定其体重、体长、体高、体厚,之后于 2007 年 5 月采血时,再测定其体重、体长、体高、体厚。本文中的增重为两次体重的差值,体长、体高、体厚也为两次测量结果的差值。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 从鱼尾静脉抽血 0.2~0.5 ml,加入 1/6 体积的 ACD 抗凝剂,置于 4℃ 冰箱中沉淀 2 h。吸取 30 μl 血细胞,酚-氯仿法抽提基因组 DNA^[17]。提取的 DNA 用 TE 溶解,1% 琼脂糖电泳检测确定质量,紫外分光光度计(eppondorf)测定 OD 值,确定浓度,使用液稀释为 50 ng/μl。

1.2.2 吉富罗非鱼 *IGF2* 基因的分离 根据 GenBank 中莫桑比克罗非鱼和尼罗罗非鱼 *IGF2* 序列(AH006117,EU272150)设计引物(表 1),分段扩增吉富罗非鱼 *IGF2*。PCR 反应总体积为 25 μl,模板为基因组 DNA 50 ng,其他组分根据 *LATaq* 酶(TaKaRa)说明书要求。PCR 反应条件为:94℃ 2 min;94℃ 30 s,55℃ 45 s,72℃ 2 min,30 个循环;72℃ 延伸 10 min;4℃ 保存。扩增产物经 1% 的琼脂糖凝胶(含 0.5 μg/ml EB)电泳分离,切下目的条带,用胶

回收试剂盒(TaKaRa)纯化,与 pMD18-T 载体(TaKaRa)连接,16℃ 过夜,转化到 DH5α 感受态细胞中,采用蓝白斑挑选阳性克隆,使用 *EcoR* I、*Hind* III(TaKaRa)双酶切验证,阳性克隆送南京博亚生物有限公司测序。

1.2.3 吉富罗非鱼 *IGF2* SNPs 位点获得及检测 通过比对吉富罗非鱼 10 个个体 *IGF2* 序列,确定外显子 1、内含子 1、外显子 2、外显子 3、内含子 3、外显子 4 各部分的 SNPs 位点,其中内含子 2 由于其长度大于 2 000 bp,AT 含量高,导致测序反应不是很顺利,而分段扩增时,引物设计又有难度,因此本文没有筛选该部分的 SNPs 位点。内含子 1 的 SNP 位点使用四引物扩增受阻突变体系 PCR 法检测,引物见表 1,PCR 反应总体积为 10 μl,模板为基因组 DNA 25 ng,各成分配比参照文献^[18]。PCR 反应条件:94℃ 3 min;94℃ 1 min,61℃ 2 min,72℃ 1 min,30 个循环;72℃ 延伸 10 min。PCR 扩增后使用 2% 琼脂糖电泳检测,确定基因型。外显子 3 的 SNP 位点使用 PCR-RFLP 法检测,在其两端设计引物(表 1),PCR 反应总体积为 10 μl,模板为基因组 DNA 25 ng,其他组分根据 *Taq* 酶(TaKaRa)说明书要求。PCR 反应条件为:94℃ 2 min;94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 30 s,30 个循环;72℃ 延伸 10 min。反应结束后取 5 μl PCR 产物电泳检测扩增结果,剩下的加限制性内切酶 *MSP* I(申能博彩)5U,37℃ 酶切 16 h,2% 琼脂糖电泳检测,确定基因型。

表 1 引物序列、复性温度及产物

Table 1 Primer sequence annealing temperature and product

引物名称 Primer	引物用途 Use of primer	引物序列 (5'-3') Sequence of primer	复性温度(℃) Annealing temperature	产物 Product
F1	<i>IGF2</i> 基因分离	ATGGAAACCCAGCAAGATACG	55	外显子 1 至外显子 2 (1 130 bp)
R1		CAAATGAGCAATCACGCAGC		
F2		CACTGGCCCTGACGCTCTA		
R2	55	CTTGGCAGGTTTGGCACA	55	外显子 2 至外显子 3 (2 867 bp)
F3		CGTAGAGGAGTGTTGT		
R3		TCACCCTCAAACTCTT		
C-outer F	Tetra-primers	TGACTTAATTTGAGATGATTTTCTTTTGGC	61	C-274 bp
C-inner R	ARMS 法检测 SNP	CTCAAATGTTGACAAAAGTAGAAATGCA		
T-inner F		FTGGAAAGCTGGTGAGACTGGCGA		
T-outer R		GACTCGTCAAGACATCCTCTGGACC		
Exon 3	PCR-RFLP 法检测 SNP	CTTTGCTCCAAGGGCTGCTAT	56	外显子 3(397 bp)
Exon 3		RTGAATGGGGCACAGGAGATGG		

1.2.4 数据分析 使用 DNASTar 进行序列拼接, Clustal W 1.83 对序列进行序列比对。根据文献^[19]计算基因频率和基因型频率。利用 SPSS 软件包的 GLM (General Linear Model) 模型分析不同基因型与鱼体型、增重的相关性。

2 结果

2.1 吉富罗非鱼 IGF2 序列长度及结构 分离得到吉富罗非鱼 IGF2 序列共 5 475 bp, 已提交 GenBank, 登录号为 GQ849008。吉富罗非鱼

IGF2 序列包含完整阅读框 669 bp 以及 3 个内含子(表 2), 内含子均符合 GT-AG 原则, 阅读框编码 222 个氨基酸。氨基酸同源性比较结果显示, 吉富罗非鱼与莫桑比克罗非鱼(AH006117)、尼罗罗非鱼(EU272150)同源性很高, 分别为 93.2%、98.6%, 但内含子部分与莫桑比克罗非鱼存在明显的长度差异(表 2)。吉富罗非鱼与莫桑比克罗非鱼 IGF2 各部分的 GC 含量分析表明, 两者的差别不大(表 2)。

表 2 吉富罗非鱼、莫桑比克罗非鱼 IGF2 各部分长度及 GC 含量
Table 2 The lengths and GC contents of different regions of IGF2

	吉富罗非鱼		莫桑比克罗非鱼	
	长度 Length (bp)	GC 含量 GC content (%)	长度 Length (bp)	GC 含量 GC content (%)
外显子 1(ATG 开始) Exon 1	75	51	75	52
内含子 1 Intron 1	848	45	848	45
外显子 2 Exon 2	172	54	172	48
内含子 2 Intron 2	2 616	41	249	41
外显子 3 Exon 3	182	57	182	57
内含子 3 Intron 3	1 342	41	363	42
外显子 4(TGA 结束) Exon 4	240	56	240	55

2.2 吉富罗非鱼 IGF2 各部分 SNPs 位点 通过比对 10 个个体序列, 发现内含子 1 的 508 nt 以 4:6 的比例存在 A/G 转换, 598 nt 以 6:4 的比例存在 A/G 转换, 621 nt 以 4:6 的比例存在 C/T 转换; 外显子 2 的 4 nt 以 4:6 的比例存在 A/C 颠换, 27 nt 以 4:6 的比例存在 C/G 颠换, 87 nt 以 6:4 的比例存在 T/G 颠换; 外显子 3 的 161 nt 以 6:4 的比例存在 A/G 转换; 内含子 3 的 165 nt 以 6:4 的比例存在 C/T 颠换, 182 nt 以 7:3 的比例存在 A/G 转换, 222 nt 以 5:5 的比例存在 C/T 转换, 1 239 nt 以 5:5 的比例存在 C/T 转换。外显子 2 的 4 nt A/C 颠换为错义突变, 导致了氨基酸的改变(K/Q), 外显子中其余位点的突变都为同义突变。因此, 我们认为上述 11 个位点为 SNPs 位点, 并且内含子 SNPs 的突变率高于外显子(表 3)。

表 3 吉富罗非鱼 IGF2 各部分 SNPs 位点
Table 3 The SNPs of different regions of GIFT IGF2

区域	位点	突变碱基	序列数	比例
Region	Locus	Mutation	No. of sequences	Ratio
内含子 1 Intron 1	508	A/G	10	4:6
	598	A/G	10	6:4
外显子 2 Exon 2	621	C/T	10	4:6
	4	A/C	10	4:6
	27	C/G	10	4:6
外显子 3 Exon 3	87	T/G	10	6:4
	161	A/G	10	6:4
内含子 3 Intron 3	165	C/T	10	6:4
	182	A/G	10	7:3
	222	C/T	10	5:5
	1 239	C/T	10	5:5

2.3 吉富罗非鱼 IGF2 SNPs 的检测及基因型分布 选择了内含子 1 621 nt 和外显子 3 161

显著水平 ($P > 0.05$) ;雌鱼群体中 ,各基因型与体型、增重都无显著相关 ($P > 0.05$) ,体高/体长值方面 ,TT 型个体 $>$ CT 型个体 $>$ CC 型个体 ,体厚/体长值方面 ,CT 型个体 $>$ CC 型个体 $>$ TT 型个体 ,增重方面 ,TT 型个体 $>$ CC 型个体 $>$ CT 型个体。外显子 2 各基因型与体型、增重的相关性分析表明 雄鱼中 ,TT 型个体体高/体长值显著高于 TG 型个体 ($P < 0.05$) ,体厚/体长值方面虽然 TT 型个体高于 TG 型个体 ,但差异并不显著 ($P > 0.05$) ,增重方面同样为 TT 型个体高于 TG 型个体 ,但也未达显著水平 ($P > 0.05$) ;雌鱼中 ,各基因型与体型、增重都无

显著差异 ($P > 0.05$) ,体高/体长值方面 TG 型个体高于 TT 型个体 ,体厚/体长值方面 TT 型个体高于 TG 型个体 ,增重方面 TG 型个体高于 TT 型个体。外显子 3 161 nt 各基因型与体型、增重相关性分析表明 雄鱼群体中 ,各基因型与体型无显著相关 ,体高/体长值和体厚/体长值方面 ,GG 型个体 $>$ AG 型个体 ,而与体重相关性分析结果显示 ,GG 型个体增重极显著大于 AG 型个体 ($P < 0.01$) ;但在雌鱼群体中 ,各基因型与体型、增重都无显著相关 ($P > 0.05$) ,AG 型个体 $>$ GG 型个体 ,增重则为 GG 型个体 $>$ AG 型个体 (表 5)。

表 5 IGF2 不同基因型与体型、增重的相关性

Table 5 Correlation of different genotypes with body shape and weight gain

座位 Locus	性别 Sex	基因型 Genotype	性状 Traits		
			体型 Fish shape		增重 Weight gain
			体高/体长 Height/length	体厚/体长 Thickness/length	
内含子 1 Intron 1	雄 Male	TT	0.384 ± 0.008 ^b	0.192 ± 0.003	480.563 ± 26.437
		CT	0.384 ± 0.007 ^b	0.200 ± 0.003	518.000 ± 21.640
		CC	0.400 ± 0.004 ^a	0.199 ± 0.004	535.172 ± 19.419
	雌 Female	TT	0.370 ± 0.004	0.190 ± 0.003	367.125 ± 19.372
		CT	0.369 ± 0.003	0.196 ± 0.002	346.487 ± 12.526
		CC	0.366 ± 0.009	0.193 ± 0.005	361.436 ± 14.535
外显子 3 Exon 3	雄 Male	GG	0.394 ± 0.004	0.197 ± 0.003	532.750 ± 14.827 ^A
		AG	0.381 ± 0.009	0.196 ± 0.002	454.769 ± 25.687 ^B
		GG	0.367 ± 0.005	0.193 ± 0.003	360.211 ± 10.305
	雌 Female	AG	0.372 ± 0.003	0.195 ± 0.003	347.846 ± 15.295

同列中不同小写字母表示差异显著 ,不同大写字母表示差异极显著。

Values within the same column with different lower case superscripts are significantly different at $P < 0.05$; and with capital superscripts are significantly different at $P < 0.01$.

3 讨论

分离了吉富罗非鱼 IGF2 基因 ,结构分析表明 ,吉富罗非鱼 IGF2 基因结构与斑马鱼、金鱼 (*Carassius auratus*) 等鱼类基本一致^[6] ,具有 4 个外显子和 3 个内含子。氨基酸同源性分析表明 ,吉富罗非鱼 IGF2 基因与莫桑比克罗非鱼 (AH006117) 相比 ,虽然氨基酸同源性高达 96.6% ,但内含子存在较大的差异 ,内含子由于不参与功能基因编码 ,所受选择压力小 ,因而比外显子更容易积累较大变异^[20]。

SNPs 位点检测方法较多^[21] ,本文采用了无需特殊仪器的 Tetra-primers ARMS 与 PCR-RFLP 法 ,相比之下 ,后者需要突变位点为限制性酶切位点 ,然而基因组中的许多突变位点往往不存在限制性酶切位点。Tetra-primers ARMS 法检测不同的基因型 ,其原理见文献^[18] ,本文对此方法的外引物位置稍作调整 ,使其可以直接使用琼脂糖电泳检测。相比而言 ,本文改进的 Tetra-primers ARMS 法在提高实验速度的同时 ,也节约了实验的成本 ,给检测工作带来方便。本文在吉富罗非鱼 IGF2 中找

到 11 处 SNP 位点, 8 处位于内含子中, 3 处位于外显子中, 内含子 2 由于长度较长, 没有检测。本文结果表明, 内含子 SNPs 的突变率高于外显子, 这与其他学者在其他物种的研究中所得的结果一致^[22-24]。本文检测了 2 处 SNPs 位点与生长性状的相关性, 另外 9 处位点与生长性状是否有相关, 有待研究, 但是有些位点附近的 GC 含量过高或存在 polyT、polyA 等结构, 给检测带来一定困难, 因此针对每一个 SNPs 位点选择合适的检测方法显得尤为重要。

研究表明, *IGF2* 在动物的胚胎生长发育过程中起着重要的作用, *IGF2* 在胚胎发育早期有较高表达, 出生后表达受到抑制, 但其仍具有促进个体生长的作用, 这是由于它能够与胰岛素样生长因子 1 型受体 (insulin-like growth factor receptor1, IGF1R) 结合的结果^[25], 它通过与 IGF1 相互协调, 发挥促生长的作用。畜禽方面的研究结果表明 *IGF2* 的多态性与动物的生长、脂肪含量等有相关性^[11-15]。本文中吉富罗非鱼 *IGF2* 内含子 1 的 621 nt C/T 基因型与雄性吉富罗非鱼体型 (体高/体长) 存在显著相关 ($P < 0.05$), 内含子的突变可能是通过改变剪接机制, 进而影响基因的调控和表达, 从而影响个体的性状特征^[26]; 外显子 3 的 161 nt A/G 变异虽然为同义突变, 但不同基因型与雄性个体的增重呈极显著相关 ($P < 0.01$), 外显子的同义突变对基因功能和表达的影响机制还有待进一步阐述, 但在畜禽^[12-13]的研究中也发现 *IGF2* 外显子同义突变与肌肉生长和脂肪沉积呈显性相关。本文结果显示, 本实验的吉富罗非鱼群体所受的选择压力较大, 与增重相关的外显子 3 位点只检测到两种基因型 (GG、AG), 另外一种基因型 (AA) 可能抗逆性差或生长较慢, 在人为的选育中被淘汰。此外, 吉富罗非鱼 *IGF2* 的这两位点与雄鱼的性状相关, 但与雌鱼的相应性状并不显著相关, 说明 *IGF2* 基因对雄鱼的影响要比雌鱼大, 类似只与一种性别相关的生长性状分子标记, 在孙效文等对鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 的研究中也有发现^[27]。

本文内含子 1CC 基因型的雄鱼体型较好,

外显子 3GG 基因型的雄鱼增重较快。研究表明, 罗非鱼的出肉率主要取决于鱼体重, 但体型对其也有一定程度的影响^[28], 因此在育种过程中考虑体重的同时也应对鱼体型的选育进行重视。本文结果表明, *IGF2* 单核苷酸变异影响雄性吉富罗非鱼的体型及增重, *IGF2* 可以作为一个非常有价值的候选基因, 应用于吉富罗非鱼的育种工作中。

参 考 文 献

- [1] Vasilatos-Youngken R, Scanes C G. Growth hormone and insulin like in poultry growth: required, optimal or ineffective. *Poultry Sciences*, 1991, 70: 1764 - 1780.
- [2] Werner H, Adamo M, Roberts C T, et al. Molecular and cellular aspects of insulin-like growth factor action. *Vitamins and Hormones*, 1994, 48: 1 - 58.
- [3] Florini J R, Magri K A, Ewton D Z, et al. "Spontaneous" differentiation of skeletal myoblast is dependent upon autocrine secretion of insulin-like growth factor-II. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, 266: 15917 - 15923.
- [4] Magri K A, Benedict M R, Ewton D Z. Negative feedback regulation of insulin-like growth factor-II gene expression in differentiating myoblasts *in vitro*. *Endocrinology*, 1994, 135: 53 - 62.
- [5] 章力, 黄希贵, 王德寿. 鱼类胰岛素样生长因子 (IGF) 系统的研究进展. *动物学杂志*, 2005, 40(2): 99 - 105.
- [6] 彭凤兰, 罗琛. 金鱼胰岛素样生长因子 2 基因克隆与组织表达. *湖南师范大学自然科学学报*, 2007, 30(2): 103 - 107.
- [7] Chen J Y, Chen J C, Chang C Y, et al. Expression of recombinant tilapia insulin-like growth factor-I and stimulation of juvenile tilapia growth by injection of recombinant IGFs polypeptides. *Aquaculture*, 2000, 181: 347 - 360.
- [9] 刘福平, 白俊杰. 单核苷酸多态性及其在水产动物遗传育种中的应用. *中国水产科学*, 2008, 15(4): 705 - 712.
- [9] 苏玉虹, 熊远著. 猪的基因图谱及数量性状位点定位. *动物学杂志*, 2001, 36(1): 55 - 58.
- [10] Van Laere A S, Nguyen M, Braunschweig M, et al. A regulatory mutation in *IGF2* causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*, 2003, 23(425): 832 - 836.
- [11] 刘桂兰, 蒋思文, 熊远著, 等. *IGF2* 基因 PCR-PFLP 多态性与脂肪沉积相关性状的关联分析. *遗传学报*, 2003, 30(12): 1107 - 1112.

- [12] 李志辉,王启贵,赵建国,等. 类胰岛素生长因子 II (*IGF2*) 基因多态性与鸡体脂性状的相关研究. *中国农业科学* 2004, 37(4): 600-604.
- [13] 薛慧良,徐来祥. 猪 *IGF2* 基因的遗传多态性及其遗传效应分析. *遗传* 2008, 30(2): 179-184.
- [14] 张争锋,陈宏,李秋玲,等. 南阳牛 *IGF2* 基因第 2 外显子多态性及其与生长发育相关性研究. *畜牧兽医学报* 2007, 38(1): 8-13.
- [15] 常怀普,欧江涛,钟金城,等. 五指山猪 *IGF2* 基因 5' 调控区单核苷酸多态性分析. *遗传* 2007, 29(1): 57-64.
- [16] Eknath A E, Tayamen M M, Palada-de V M S, et al. Genetic improvement of farmed tilapias: the growth performance of eight strains of *Oreochromis niloticus* tested in different farm environments. *Aquaculture*, 1993, 111: 171-188.
- [17] Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T. *Molecular Cloning—A Laboratory Manual*. New York: Cold Springs Harbor Laboratory Press, 1989.
- [18] Ye S, Dhillon S, Ke X, et al. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Research* 2001, 29(17): 1-8.
- [19] 郭满才,袁志发,陈宏,等. 遗传多样性指标体系研究. *动物生物技术通讯* 2002, 8(1): 359-364.
- [20] 卢泳全,汪旭升,黄伟素,等. 基于水稻内含子多态性开发禾本科扩增共有序列遗传标记. *中国农业科学*, 2006, 39(3): 433-439.
- [21] 石磊,岳文斌. SNP 的研究进展及其在家畜育种中的应用. *畜禽业* 2007, 3: 2-4.
- [22] Halushka M K, Fan J B, Bentley K, et al. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. *Nat Genet*, 1999, 22(3): 239-247.
- [23] Rafalski J A. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science* 2002, 162(36): 329-333.
- [24] Nie Q, Lei M, Quyang J, et al. Identification and characterization of single nucleotide polymorphisms in 12 chicken growth-correlated genes by denaturing high performance liquid chromatography. *Genet Sel Evol* 2005, 37(3): 339-360.
- [25] 于凌云,白俊杰,叶星,等. 大口黑鲈 *Myd* 基因结构和单核苷酸多态性位点的筛选. *水产学报* 2009, 33(1): 1-8.
- [26] 龙健儿,贺力强,蔡霞. *IGF-2r* 的结构和功能及其在胚胎发育中的作用. *生命科学* 2005, 17(5): 439-444.
- [27] 孙效文,鲁翠云,匡友谊,等. 镜鲤两个繁殖群体的遗传结构和几种性状的基因型分析. *水产学报* 2007, 37(3): 273-279.
- [28] Rutten M J M, Bovenhuis H, Komen H. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 2005, 246: 125-132.