

## 獭兔 MMP2 基因外显子 1 和 10 的多态性分析<sup>\*</sup>

陈赛娟<sup>1,2<sup>\*\*</sup></sup>, 刘涛<sup>3</sup>, 黄玉亭<sup>1,2</sup>, 董兵<sup>4</sup>

(1.河北农业大学山区研究所, 河北保定 071001; 2.河北省山区农业工程技术研究中心, 河北保定 071001;

3.瑞普(保定)生物药业有限公司, 河北保定 071000; 4.河北农业大学科学技术研究院, 河北保定 071001)

### 引言

为了寻找与獭兔被毛密度高度相关的分子标记, 本课题组在前期利用家兔全基因表达谱芯片, 筛选出了多种在不同被毛密度獭兔皮肤组织中差异表达的基因, 部分参与细胞增殖、分化、凋亡和迁移的基因表达水平发生了明显改变, 如: MMP2、TGF $\beta$ 、IGF-1B、BMP2、CDK2、CCNA2 等, 其中 MMP2 基因在毛密组獭兔皮肤组织中高表达, 是毛稀组的 8.195 倍; CCNA2 基因在毛密组獭兔皮肤组织中低表达, 是毛稀组的 0.143 倍<sup>[1-2]</sup>。本课题组选择 CCNA2 基因作为候选基因, 进行了多态性分析, 筛选出了 T549G 和 G748A 两个与獭兔被毛密度相关的单核苷酸多态性位点, 确定了与被毛密度相关的遗传标记基因型<sup>[3]</sup>。本试验拟选择 MMP2 基因作为候选基因, 对 MMP2 基因外显子 1 和 10 进行多态性分析。

### 材料与方法

分别设计并合成用于扩增 MMP2 基因外显子 1 和 10 的引物序列, 外显子 1:F:5'-AGT CTA GGC AAT CGA AAG AGC GGA CC-3', R:5'-TCG GAA AGT TCG ACT CAA CTT GGC TC-3'; 外显子 10:F:5'-TTG GTC TGA TTT ATT TCA TTT CCA CTC GT-3', R:5'-CAG TCT CCC AGG TGA CGC CCA TGT TT-3'。选择同日龄在相同条件下饲养管理的白色獭兔群, 在 100 日龄时测定其背中部被毛密度<sup>[4]</sup>, 将兔群按被毛密度分为毛稀组和毛密组, 每组选出 50 只獭兔, 组内公母各半, 分别从 100 只獭兔的耳缘静脉采集血液样品, 加入 EDTA·Na<sub>2</sub> 抗凝。提取血液中的 DNA, 分别进行 MMP2 基因外显子 1 和外显子 10 的 PCR 扩增和测序。

### 结果与讨论

经琼脂糖凝胶电泳鉴定表明, 用血液 DNA 提取试剂盒从 96 只獭兔的血液样品中成功抽提出 DNA, 并分别扩增出了与目的基因片段长度相当 (338bp 和 400bp) 的扩增产物, 回收纯化 PCR 产物并进行序列测定, 从测序结果中分别提取出每个序列中段长 156bp 的 MMP2 基因外显子 1 序列和 137bp 的 MMP2 基因外显子 10 序列, 对序列进行比对后发现, 96 只獭兔的 MMP2 基因外显子 1 序列和外显子 10 序列均完全相同, 未发现多态性位点。本课题组后续将继续对 MMP2 基因的其它外显子进行多态性分析。

### 主要参考文献

- [1] Chen S.J, Liu T, Liu Y.J, *et al.*, Gene expression patterns in different wool densities of Rex rabbit using cDNA microarray. *Agr. Sci. China*. 2011, 10(4): 595-601.
- [2] 陈赛娟, 谷子林, 董兵, 等. 不同被毛密度獭兔的皮肤组织差异表达基因研究[J]. 畜牧兽医学报, 2011, 42(6): 790-796.
- [3] Chen S.J, Liu T, Liu Y.J, *et al.*, Identification of single nucleotide polymorphisms in the CCNA2 gene and its association with wool density in Rex rabbits. *Genet. Mol. Res*. 2011, 10(4): 3365-3370.
- [4] 谷子林, 顾时贵, 任文社, 等. 力克斯兔被毛密度研究[J]. 中国养兔杂志, 1999, 4: 18-21.

<sup>\*</sup>基金项目: 河北省自然科学基金项目 (C2014204019), 河北省青年拔尖人才支持计划。

<sup>\*\*</sup>作者简介: 陈赛娟 (1982-), 女, 副研究员, 博士, 硕士生导师, 研究方向为家兔营养、繁育及疾病防控。 E-mail:chensaijuan@126.com。