

绵羊MC4R基因的突变挖掘、效应分析及其药理学特性研究

Mutation mining, effect analysis and pharmacological characteristics of MC4R gene in sheep

赵子仪, 刘嘉怡, 杨凯翔, 别志文, 李冉, 潘传英, 蓝贤勇*

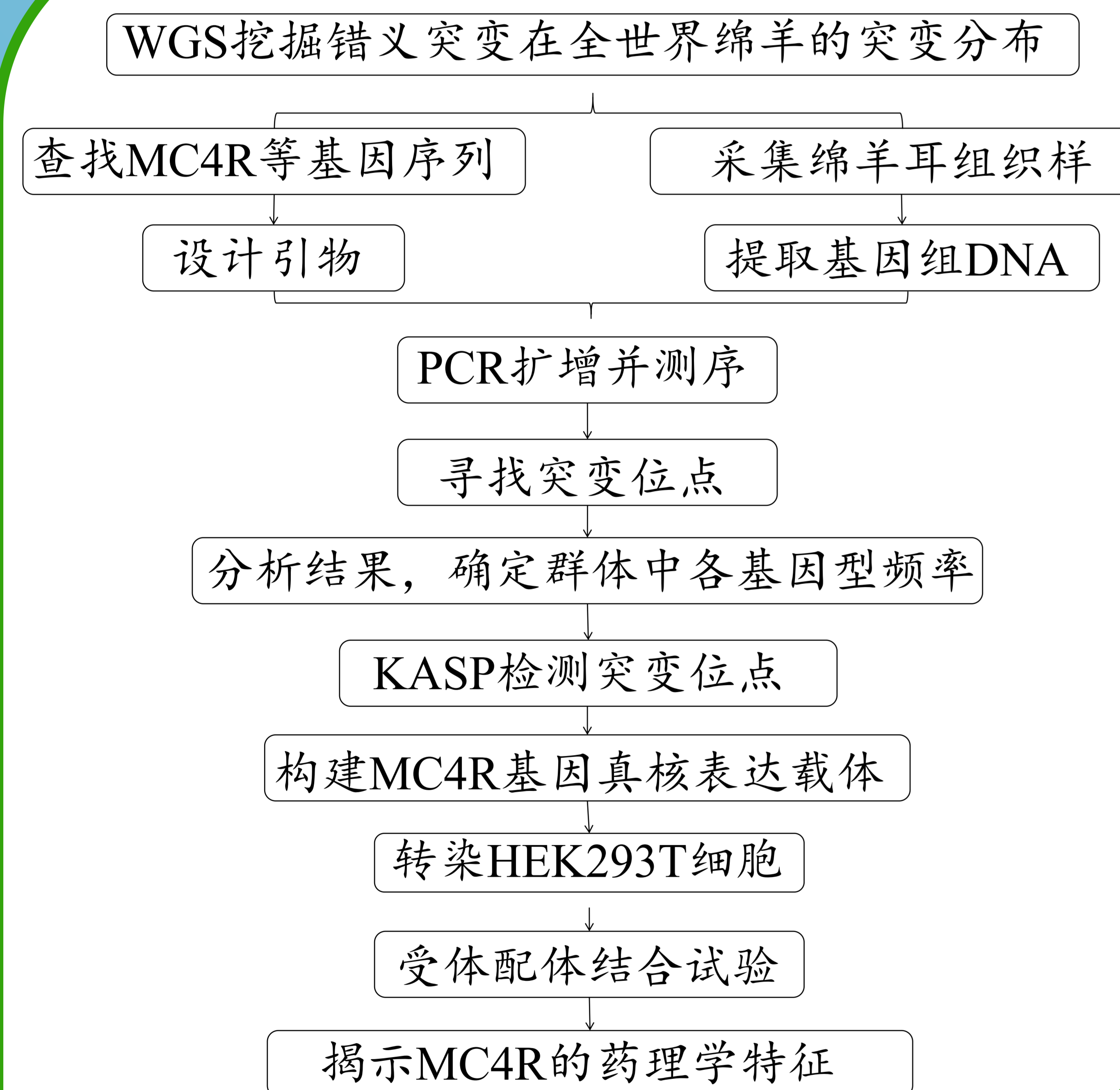
(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌712100)

项目背景

黑素皮质素受体 (MCRs) 是G蛋白偶联受体中A类家族的成员, 包含MC1R-MC5R共5个成员。黑素皮质素在动物体内参与包括色素沉着、类固醇生成、能量稳态、外分泌腺分泌等在内的多种生理功能。其中, MC4R主要在中枢神经系统中表达, 其调节食物摄入和性功能。

目前, 哺乳动物MC4R基因的研究多集中在人、猪、牛、绵羊中, 研究发现MC4R的SNPs位点分别与人类肥胖和体重指数、猪脂肪沉积及肉质性状、牛体重和肉质性状、绵羊体重和体尺性状相关。但是, 目前关于绵羊MC4R基因突变的作用机制鲜有报道。为此, 本研究以全世界81个品种绵羊MC4R基因的错义突变为切入点, 旨在寻找与绵羊生长性状相关联的错义突变, 并采用药理学研究方法对突变信号转导机制进行研究, 以期对绵羊MC4R基因的突变功能研究提供理论参考。

技术路线



研究进展

1、对MC4R基因PCR扩增后测序, 结果显示在五种绵羊中只有湖羊存在g.548C>T突变个体 (图1)

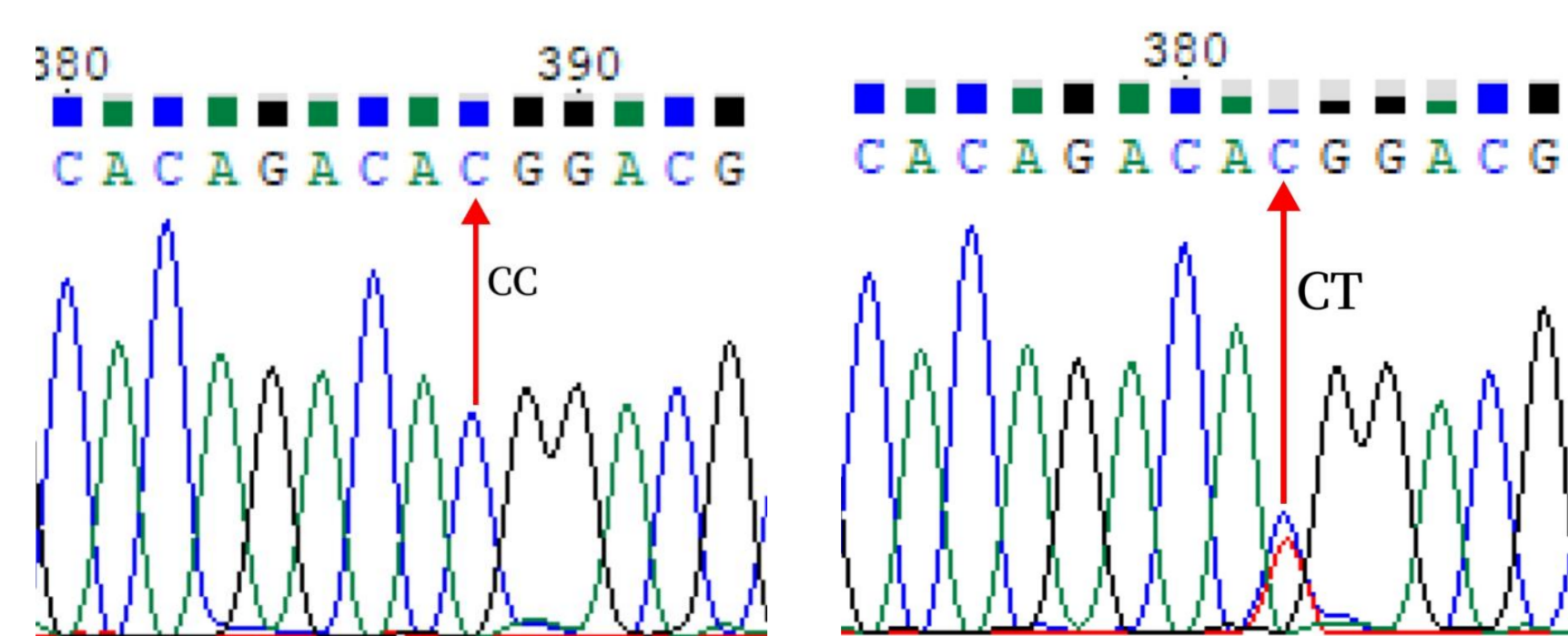


图1 MC4R基因PCR测序峰图

2、对试验绵羊进行KASP分型, 在7个绵羊品种中只发现湖羊存在g.548C>T (T117M) 突变 (图2)

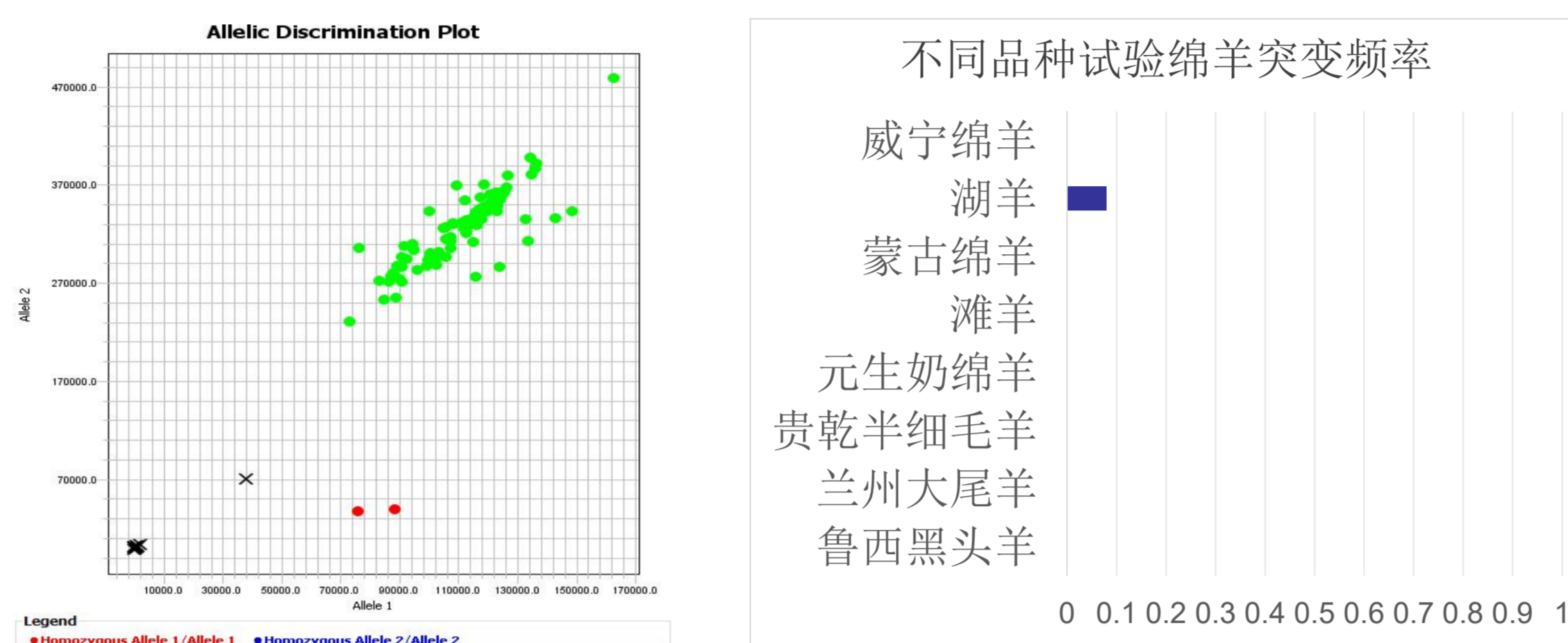


图2 MC4R基因KASP测试突变频率

3、MC4R的g.548C>T (T117M) 蛋白结构

该突变导致了MC4R基因上第一个胞外环117位点苏氨酸到蛋氨酸的错义突变, 对应该基因g.548C>T的突变 (图3)。

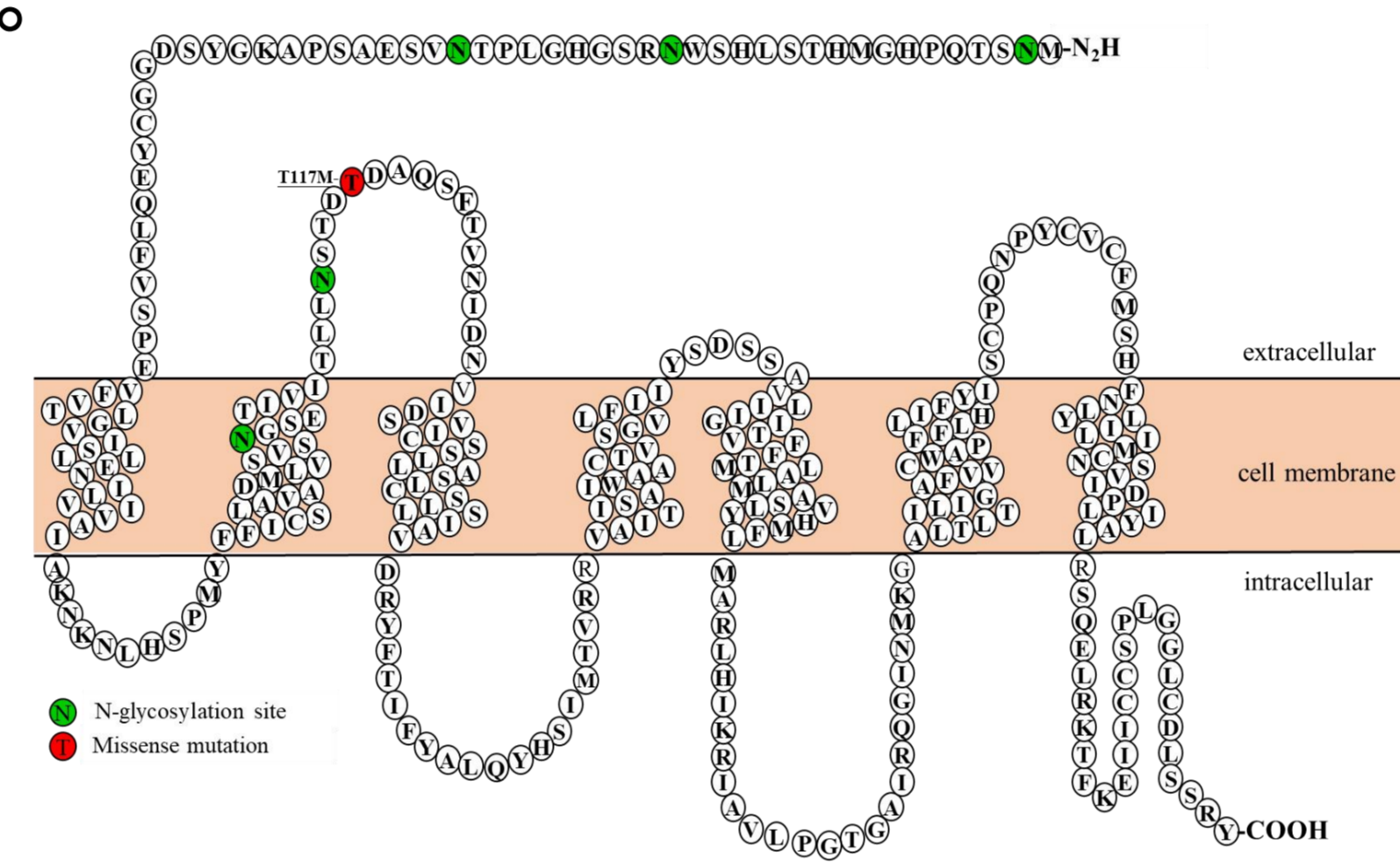


图3 MC4R的蛋白结构图

4、绵羊MC4R基因g.548C>T (T117M) 在全球绵羊群体中的分布

利用全基因组测序分析全球范围内81个不同品种绵羊该基因位点的突变频率 (图4), 并计算突变品种的遗传参数 (表1)。其中, 欧洲和非洲品种中发生的频率较高, 中国品种中只有湖羊发生了低频突变。

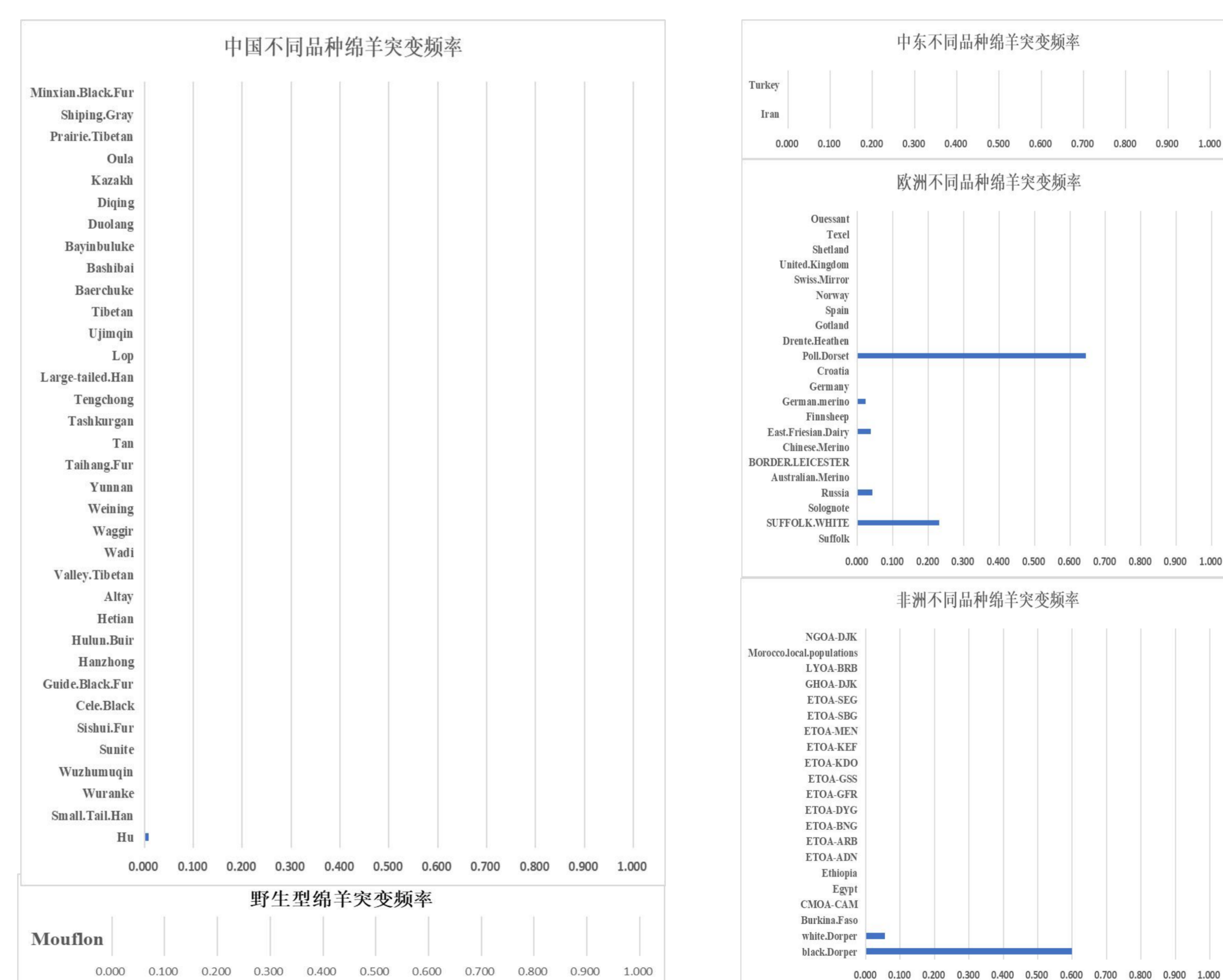


图4 绵羊MC4R基因g.548C>T突变在全球绵羊群体中的分布

表1 绵羊MC4R基因g.548C>T突变位点群体遗传参数估计

Breeds	Pc	Pt	Ho	He	Ne	PIC
Poll.Dorset	0.355	0.645	0.542	0.458	1.845	0.458
black.Dorper	0.400	0.600	0.520	0.480	1.923	0.480
Suffolk.White	0.769	0.231	0.645	0.355	1.551	0.355
Russia	0.958	0.042	0.920	0.080	1.088	0.080
East.Friesian.Dairy	0.963	0.037	0.929	0.071	1.077	0.071
German.Merino	0.977	0.023	0.955	0.045	1.047	0.044
white.Dorper	0.944	0.056	0.894	0.106	1.118	0.100
Hu	0.991	0.009	0.982	0.018	1.018	0.018

5、共聚焦激光显微镜检查表明转染成功 (图5)

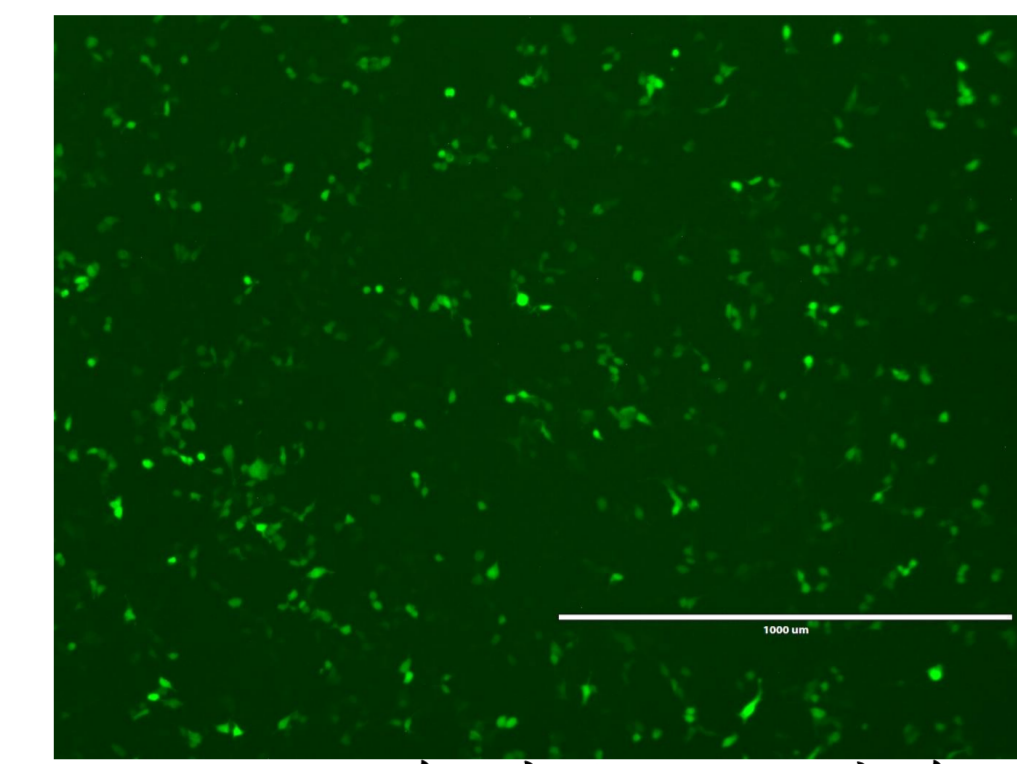


图5 绿色荧光蛋白染色

6、在不同浓度激动剂(α -MSH、 β -MSH、NDP-MSH和ACTH)的刺激下, 揭示其信号特性 (图6)。绵羊MC4R基因T117M突变后与激动剂ACTH结合后刺激cAMP产生的能力增加。杂合突变与纯合突变受体的基础活性相比无显著差异, 但与野生型有显著差异 (图7)

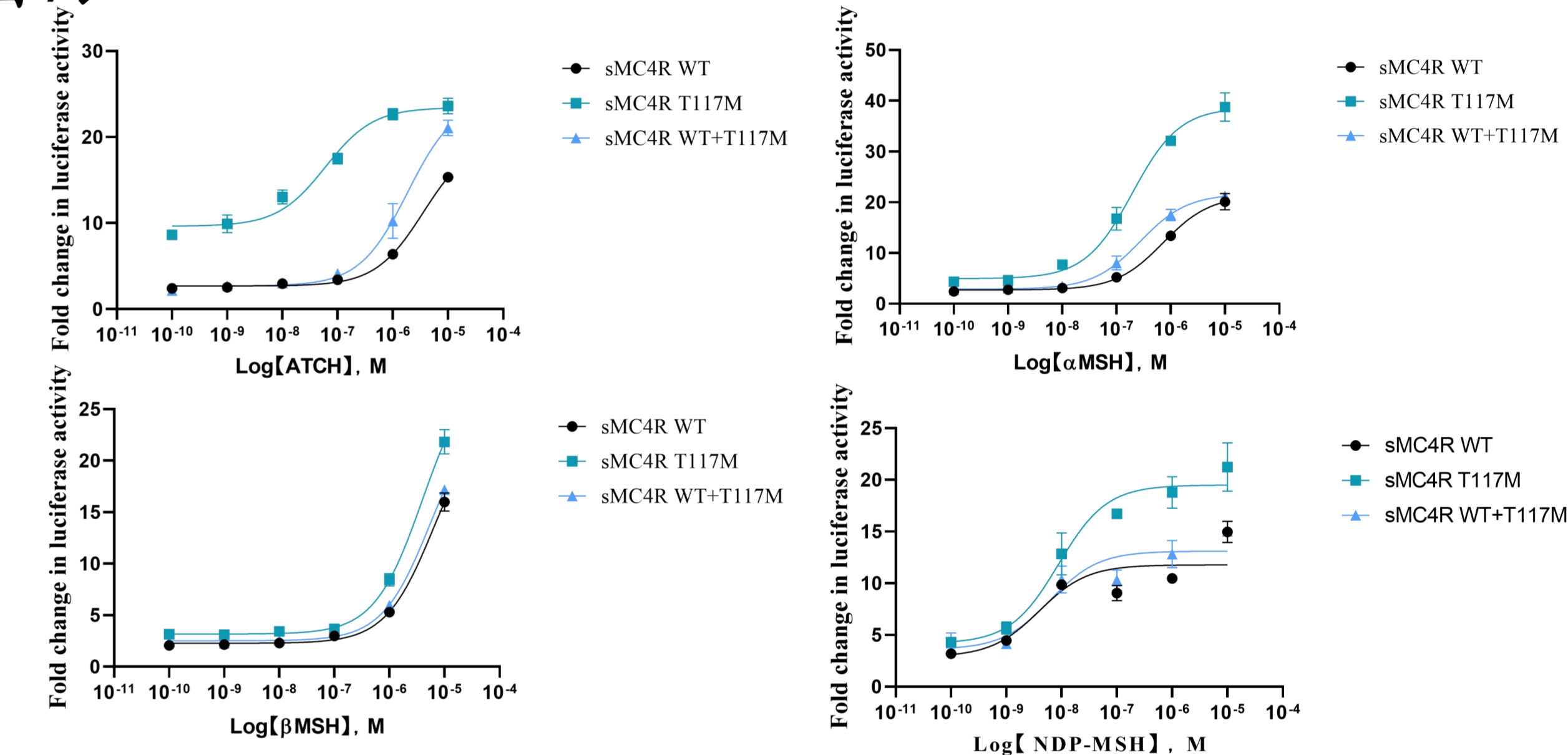


图6 绵羊MC4R基因T117M突变对cAMP信号通路的激活情况

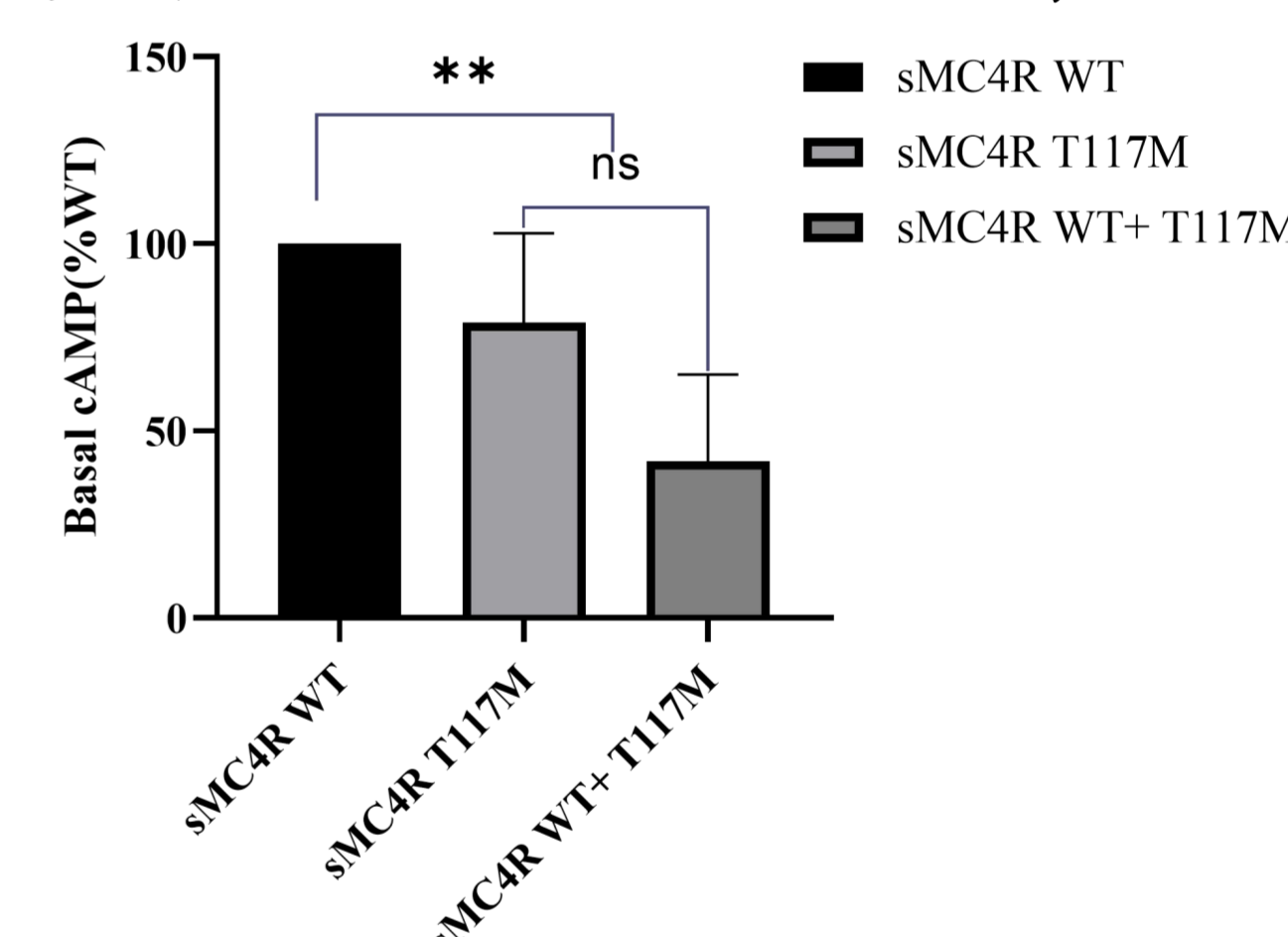


图7 绵羊MC4R基因T117M突变对受体活性影响

现阶段成果

- 本研究在绵羊MC4R基因编码区检测到一个错义突变 (T117M), 在81个品种绵羊的WGS数据中发现该突变在欧洲绵羊品种中具有更高的突变频率, 在中国绵羊品种中突变频率较低, 与测序结果和KASP分型结果相一致;
- 已有研究报道该错义突变(T117M)与湖羊6月龄体重和4-6月龄平均日增重显著相关 ($P < 0.05$); 现对突变产生的药理学变化分析后发现绵羊该T117M突变使下游cAMP信号转导激活, 刺激cAMP产生的能力增加, 提示其可作为绵羊分子标记辅助选育的潜在分子标记。

致谢

- 感谢全国大学生创新训练项目 (202310712190) 和国家科技创新2030-农业生物育种重大项目 (2022ZD040130207) 资助。