

猪 POU1F1 第一内含子单核苷酸多态性和生长性状相关性研究

方 华¹, 郑友民², 李宏滨¹, 杜立新¹, 马月辉¹

(¹中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193; ²中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081)

摘要:【目的】寻找猪 *POU1F1* 多态位点和基因表达量之间可能存在的相关性。【方法】以大白猪(英系)和中畜黑猪为试验材料,对 *POU1F1* 基因第一内含子多态性进行 PCR-SSCP 检测分析,同时提取垂体总 RNA,对 *POU1F1*、*GH*、*PRL*、*TSH-β* 的 mRNA 进行实时定量荧光 PCR 检测。【结果】发现一个位于第一内含子 1515 位点的突变和猪屠宰前日增重相关系数为 $R=-0.6$ ($P<0.05$),且该位点的替换和屠宰前 *GH* 的表达量存在显著相关 ($R=0.483$, $P<0.05$);【结论】T→C 的替换将导致 *GH* 的 mRNA 表达量升高,在生长性状上表现为屠宰前日增重降低。

关键词: POU1F1; PCR-SSCP; 多态性; SNP 位点

Relationship of Single Nucleotide Polymorphism of Intron 1 in Procine POU1F1 and the Growth Trait

FANG Hua¹, ZHENG You-min², LI Hong-bin¹, DU Li-xin¹, MA Yue-hui¹

(¹Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193; ²Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract:【Objective】The relationship between porcine DNA polymorphisms of POU1F1 and mRNA expression was studied.【Method】The intron 1, a partial regional polymorphisms of porcine POU1F1 of two breeds of Yorkshire and Zhongxu black, were investigated by PCR-SSCP. Based on the total RNA contracted from animals pituitary, the mRNA quantities of *POU1F1*, *GH*, *PRL*, and *TSH-β* were measured by RQ-PCR.【Result】It was found that a SNP of T→C in intron 1 (site 1515bp), markedly correlated with the daily weight gain ($R=-0.6$, $P<0.05$) and the expression of GH ($P<0.05$) before slaughtering.【Conclusion】The SNP of T→C led to the increase of the GH expression; But the daily weight gain decreased in the growth trait before slaughtering.

Key words: POU1F1; PCR-SSCP; polymorphisms; SNP

0 引言

【研究意义】POU1F1 是垂体特异性转录因子 (pituitary specific transcription factor 1, Pit-1), 属于 POU 蛋白家族中几种同源异型蛋白之一^[1-2]。POU 家族中许多成员都是重要的转录因子,存在其中的 DNA 结合域对识别特定的 DNA 序列并与之结合起关键性作用^[3]。【前人研究进展】研究表明,POU1F1 作为反式因子可激活生长激素基因 (GH)、催乳素基因 (PRL) 和促甲状腺素 (TSH) 基因 β 亚基及 POU1F1 基因的转录,对 GH、PRL、TSH β 的表达起到决定性

作用^[4], 进而对生物体的生长发育产生重要影响^[5-7]。

【本研究切入点】猪 POU1F1 基因第一内含子和第二内含子为 POU1F1 两段最长的内含子,该基因在猪上的研究始于 1993 年,目前第一内含子在 2005 年被测序提交,第二内含子仍未得到准确的测序序列。【拟解决的关键问题】本试验通过对第一内含子内单核苷酸多态性位点的筛查,对确认的多态性位点进行 PCR-SSCP 检测,并将该位点各基因型与各相关基因 mRNA 表达量及猪生长性状进行数据分析,在 DNA 水平与 RNA 水平上探讨该多态性和猪的生长是否存在相关。

收稿日期: 2008-01-28; 接受日期: 2008-04-26

基金项目: 国家重点基础研究发展规划“973”项目 (TG2000016104)

作者简介: 方 华 (1978—), 女, 北京人, 硕士研究生, 研究方向为猪分子遗传学。Tel: 010-85089132。通信作者郑友民 (1957—), 男, 辽宁沈阳人, 研究员, 研究方向为分子遗传与猪育种。E-mail: zhengym@mail.caas.net.cn

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

试验动物采用中国农业科学院畜牧研究所大白猪（英系）、中畜黑猪。采样数量大白猪 42 头，中畜黑猪 42 头。采样时间均为凌晨 2:00~4:00，采样日龄为 200±30 日龄。采集垂体置于液氮中速冻，随后转入-70℃冰箱保存。同时采集第 2~3 肋间背最长肌肌肉组织约 1 g，置于装有 75%乙醇溶液的离心管中，转入-20℃冰箱保存，备 DNA 提取用。

1.2 引物设计与合成

根据 GenBank 发表的猪第一内含子序列 AY948544^[8]设计引物。首先用引物 P6 扩增一条较长的片段，从样品中随机挑选若干个体扩增后进行克隆测序，通过与发表序列的 BLAST 比对，找到存在多态性的位点，设计引物进行全部样品的 PCR-SSCP 检测，P7、P9 在群体中仅发现极少量的突变个体（n<10），本文仅就 P8 引物扩增产物产生的多态性进行探讨（表 1）。根据 GenBank 发表的猪 POU1F1、GH、PRL、TSH、β-actin 基因的 cDNA 序列，分别设计用于组织 cDNA 中各基因 real-time PCR 的引物（表 2）。引物由北京诺赛基因公司合成。

表 1 DNA 试验所用引物

Table 1 The primers of DNA

编号 No.	引物序列 Primer seq.	片段长度 Length (bp)	所在区域 Load in the DNA seq.	试验方法 Method
P6	5'-CTT CTG CAA CTC TGC CTC T-3'	1956	Exon 1 intron 1	测序
	5'-TAT CGG GAA TCA TCT GGT-3'			Nucleotide sequencing
P7	5'-CAA TAA CGG TCT TCG GGT-3'	156	Exon 1 intron 1	PCR-SSCP
	5'-CTT AGG TGT TTT GGC TTC-3'			
P8	5'-GTG GAT AGG ATT TGG TC -3'	182	Intron 1	PCR-SSCP
	5'-TTT ACT TCC GAG GTT TA-3'			
P9	5'-TGG TTC CTA GTC GGA TTC GT-3'	158	Intron 1	PCR-SSCP
	5'-TAC AGT GGG GCA AGG ATG TT-3'			

表 2 RNA 试验所用引物

Table 2 The primer designed for real-time PCR

编号 No.	引物序列 Primer seq.	引物长度 Length	融解温度 T _m	GC 含量 GC%	产物长度 Length
垂体特异性转录因子基因	5'-GTG ATG TCC ACA GCA ACA GG-3'	20	60.16	55	146
POU1F1	5'-GGA GGA AAG CCA TGA CTC AA-3'	20	60.2	50	
生长激素基因	5'-ACG AGA AGC TGA AGG ACC TG-3'	20	59.6	55	130
GH	5'-TCA TCA CTG CGC AAG TTT GT-3'	20	60.46	45	
促乳素基因	5'-GGC AGA GGG TTC ATT ACC AA-3'	20	59.3	50	153
PRL	5'-GTG ATA CAG GGG TCA TTC CA-3'	20	60.35	55	
持家基因	5'-GTC CAC TGG TGT CTT CAC GA-3'	20	59.71	55	154
GAPDH	5'-GCT GAC GAT CTT GAG GGA GT-3'	20	59.41	55	

1.3 试验方法

提取基因组 DNA，稀释后随机挑选多个样本用引物 P6 进行 PCR 扩增，产物纯化回收后克隆测序，进行 BLAST 比对，针对多态性位点设计引物，对所有样品分别进行 PCR 扩增，进行 SSCP 分析。

提取垂体总 RNA，纯化后反转录成 cDNA，SYBR-

green 法进行 RT-PCR^[9]，测定各不同基因的 mRNA 在垂体内的相对含量。

1.4 统计及分析

对多态性和生长性状相关性的分析采用 pearson 相关（积差相关），将 AA 基因型定义为数值 1，AB 基因型定义为数值 0，BB 基因型定义为数值-1，在

品种内分析个体的基因型和各个生长性状的相关。

在 mRNA 表达的定量分析中，首先用持家基因 GAPDH 对反转录产物进行内参定量（Q1），然后再在所研究的目的基因定量（Q2）后扣除样品内参定量（ $Q=Q2/Q1$ ），所得数值即为对样品进行研究比较时使用的结果。

统计软件采用 SPSS11.0。

2 结果与分析

根据 P6 扩增片段与 GenBank 上 AY948544 序列进行 BLAST 比对的结果，对 1515 位点设计产物长度 300 bp 以内的引物 P8，用 P8 进行 PCR 扩增，尝试进行 PCR-SSCP 分析。

2.1 P8 扩增产物的 PCR-SSCP 分析

P8 扩增产物进行 12%聚丙烯酰胺凝胶电泳，银染后效果如图 1。由图中可见，通过 12%的聚丙烯酰胺的凝胶电泳，片段 P8 共产生了 3 种带型，其中产生 3 条带的带型定为杂合的 AB 基因型，另外 2 种只产生 2 条带的带型分别定为纯合的 AA 基因型和 BB 基因型。

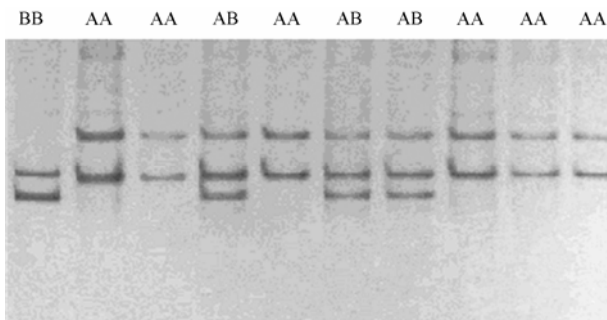


图 1 P8 扩增产物的 12%聚丙烯酰胺凝胶电泳银染结果

Fig. 1 PAGE pattern of porcine POU1F1 gene P8 fragment PCR-SSCP analysis

2.2 P8 扩增片段的 PCR 产物测序

挑选 AA 基因型和 BB 基因型个体各一，PCR 扩增纯化后直接送交测序公司进行 PCR 产物测序。测序结果和已发布的序列 AY948544 相对区域进行比对，可知 B 基因型第 1515 位（本片段 134 位）发生了 T→C 的碱基突变（DQ485157）。

AA 基因型：

GTGGATAGGATTTGGTCAGAATAAAAATAA
AATTTGGTATTGAGGTTATAATTAACAAGTTTA

TTCTCAAAACCCTATTTATTTACTTAAAAATAAA
TAACATATTAATAAGTTAGCCTATCTTTTATACT
ATTTCCCAAGATGGAGAAACAAAAAGTATTTA
AACCTCGGAAGTAAAAA

BB 基因型：

GTGGATAGGATTTGGTCAGAATAAAAATAA
AATTTGGTATTGAGGTTATAATTAACAAGTTTA
TTCTCAAAACCCTATTTATTTACTTAAAAATAAA
TAACATATTAATAAGTTAGCCTATCTTTTATACT
ACTTTCCCAAGATGGAGAAACAAAAAGTATTTA
AACCTCGGAAGTAAAAA

2.3 基因频率和基因型频率的统计

分别对大白猪、中畜黑猪该位点的基因型和等位基因频率进行统计，结果如表 3。根据表 3 可知，POU1F1 的第一内含子多态位点在大白猪、中畜黑猪中的等位基因频率和基因型频率基本相似，均为 A 等位基因占优势，AA 纯合基因型在群体中占绝对优势地位。

表 3 猪 POU1F1 基因第一内含子多态位点 PCR-SSCP 的基因型和等位基因频率

Table 3 Detection results for PCR-SSCP in intron 1 site of POU1F1 gene

	大白猪 Yorkshire	中畜黑猪 Zhongxu B.
AA 个体数量 AA number	31	29
AA 基因型频率 AA genotype frequency	0.738	0.690
AB 个体数量 AB number	7	9
AB 基因型频率 AB genotype frequency	0.167	0.214
BB 个体数量 BB number	4	4
BB 基因型频率 BB genotype frequency	0.095	0.095
个体总数 Total	42	42
A 等位基因频率 Allele frequency A	0.821	0.798
B 等位基因频率 Allele frequency B	0.179	0.202

2.4 POU1F1 基因第一内含子多态性和生长性状的关系

根据生产数据和基因型分析，对大白猪和中畜黑猪进行生长性状和基因型的相关性分析，AA 基因型赋值为 1，AB 基因型赋值为 0，BB 基因型赋值为 -1，分析大白猪生长性状和基因型的关系如表 4。中畜黑猪群体采用相同的分析方法得到了相似的相关性结果（表 5）。

根据表 4 可知，在大白猪群体内，POU1F1 基因

第一内含子 PCR-SSCP 多态位点产生的基因型和屠宰前日增重有极显著正相关关系 ($R=0.6$, $P=0.004 < 0.01$), 即该位点的多态性很可能和大白猪的后期生长速度有相关关系, A 等位基因的出现可能更有利于大白猪的后期生长, 提高后期平均日增重水平。

根据表 5 可知, 中畜黑猪群体内, POU1F1 基因

第一内含子 PCR-SSCP 多态位点产生的基因型也和屠宰前日增重有相关, 相关达到显著 ($R=0.311$, $P=0.045 < 0.05$)。尽管其相关系数和显著性均低于大白猪群体, 但是同样显示该位点的多态性和后期增重存在正相关, 即 A 等位基因比例的增加将导致猪断奶后屠宰前日增重水平的提高。

表 4 大白猪 POU1F1 基因第一内含子 PCR-SSCP 多态性和生长性状的相关

Table 4 Correlate of PCR-SSCP of intron 1 and the growth trait in Yorkshire pigs

		初生重	断奶重	断奶前日增重	屠宰前日增重	背膘厚	P8
		BW	AW	DG1	DG2	BT	
初生重	Pearson correlation	1	0.199	-0.065	-0.021	0.195	-0.241
Birth weight	Sig. (2-tailed)		0.363	0.770	0.923	0.384	0.292
断奶重	Pearson correlation		1	0.633	-0.150	-0.069	-0.240
Ablactation weight	Sig. (2-tailed)			0.001	0.495	0.759	0.295
断奶前日增重	Pearson correlation			1	-0.026	0.068	0.193
Daily gain 1	Sig. (2-tailed)				0.906	0.764	0.401
屠宰前日增重	Pearson correlation				1	0.549	0.600
Daily gain 2	Sig. (2-tailed)					0.008	0.004**
背膘厚	Pearson correlation					1	-0.075
Backfat thick	Sig. (2-tailed)						0.754

** $P < 0.01$

表 5 中畜黑猪 POU1F1 基因第一内含子 PCR-SSCP 多态性和生长性状的相关

Table 5 Correlation between PCR-SSCP of intron 1 and the growth trait in Zhongxu black pigs

		初生重	断奶重	断奶前日增重	屠宰前日增重	背膘厚	P8
		BW	AW	DG1	DG2	BT	
初生重	Pearson correlation	1	0.402	0.200	0.333	-0.054	0.002
Birth weight	Sig. (2-tailed)		0.006	0.187	0.026	0.772	0.990
断奶重	Pearson correlation		1	0.840	0.230	0.008	0.132
Ablactation weight	Sig. (2-tailed)			0.000	0.128	0.965	0.406
断奶前日增重	Pearson correlation			1	0.201	0.202	0.084
Daily gain 1	Sig. (2-tailed)				0.186	0.275	0.597
屠宰前日增重	Pearson correlation				1	0.414	0.311
Daily gain 2	Sig. (2-tailed)					0.021	0.045*
背膘厚	Pearson correlation					1	0.232
Backfat thick	Sig. (2-tailed)						0.235

* $P < 0.05$

2.5 POU1F1 第一内含子多态性和 mRNA 表达量的关系

对各基因 mRNA 相对表达量取对数后与基因型进行相关性分析发现, 在中畜黑猪群体内, 第一内含子上的 PCR-SSCP 多态位点区分的各基因型与 GH 的表达量存在显著负相关 ($R=-0.483$, $P=0.049$), 但在大白猪群体内未得到一致结果 (表 6)。

3 讨论

垂体特异性转录因子 1 (POU1F1) 是调控垂体 GH、PRL、TSH- β 亚基转录的重要反式因子, 对动物正常的生长发育具有重要的生理意义, 被视为与猪生长相关的候选基因之一。猪 POU1F1 基因已经被定位

表 6 中畜黑猪第一内含子多态性与各基因 mRNA 表达的相关

Table 6 Correlation between PCR-SSCP of intron 1 and the mRNA expression of genes in Zhongxu black pigs

		LOGGH	LOGPIT	LOGPRL	LOGTSH	P18
LOGGH	Pearson correlation	1.00	0.79	0.06	0.39	-0.48
	Sig. (2-tailed)		0.00	0.83	0.17	0.049*
LOGPIT	Pearson correlation		1.00	0.58	0.83	-0.19
	Sig. (2-tailed)			0.02	0.00	0.47
LOGPRL	Pearson correlation			1.00	0.42	0.25
	Sig. (2-tailed)				0.13	0.36
LOGTSH	Pearson correlation				1.00	-0.07
	Sig. (2-tailed)					0.83
P18	Pearson correlation					1.00
	Sig. (2-tailed)					

* $P < 0.05$

在猪的 13 号染色体上的 q46 区域, 已知 cDNA 全长 876 bp, 编码 292 个氨基酸, 包含 6 个外显子^[10]。POU1F1 基因包含两个区域, 即 POU 区和 N 端转录激活区。POU1F1 蛋白由 POU-SD 和 POU-HD 两个区域组成, 其中 POU-SD 为 128 至 198 位的氨基酸, 而 POU-HD 为 214 至 273 位氨基酸^[11]。猪 POU1F1 基因序列与已知的一些哺乳动物的 POU1F1 序列同源性高达 95%^[12], 序列上的区别多出现在 N 端区域中, POU 区域则高度保守。N 端转录激活区由 75 个氨基酸组成, 为富含羟基氨基酸的高度保守区, 其中羟基氨基酸含量达到 30% 以上, 它的结构很像 RNA 聚合酶 1 中的大亚基, 含有数个脯氨酸, 无 α 螺旋结构, 在功能上为转录激活靶基因启动子的主要部位^[13]。第一外显子和第二外显子主要编码 N 端转录激活区, 而第一内含子和第二内含子为 POU1F1 两段最长的内含子, 尽管该基因在猪上的研究始于 1993 年, 但截至 2006 年第二内含子仍未得到准确的测序序列, 第一内含子在 2005 年方被测序提交^[8]。

通过 POU1F1 第一内含子 1151 位点各基因型与生长性状的相关性分析发现, 该位点的突变和大型猪断奶后平均日增重存在显著相关, 这和以往通常认为 POU1F1 对生长前期特别是断奶前具有更多影响的结论^[14]有不同。该位点的多态性与 POU1F1 基因表达量不存在相关关系, 但在中畜黑猪群体中发现与 GH 的表达量存在显著负相关 ($R = -0.483$, $P = 0.049$), 在中畜黑猪群体内, 第一内含子 PCR-SSCP 区分的各基因型中 B 等位基因的出现可能更有利于 GH 后期的转录表达。本试验中找到的位点处于第一内含子中部, 未验证是否可能产生可变剪接位点引起 POU1F1 生理

功能的改变, 但通过基因型与生长性状相关分析的研究发现, 该突变位点产生的基因型和屠宰前日增重, 即断奶后日增重显著相关, 这种相关在两个大型猪群体内都得到了验证, 在大白猪群体中达到极显著水平。由此, 该位点的突变可能对大型猪后期增长产生一定影响, A 等位基因比 B 等位基因更有利于后期的生长速度提高。

在 RNA 表达水平发现中畜黑猪群体内该突变位点和 GH 基因的表达存在显著负相关。GH 通过 IGF-I 促进肌肉生长, 可以提高猪的瘦肉率和眼肌面积^[15-17], 从此方面考虑该定量结果和基因型与生长性状的正相关似乎矛盾, 但是由于采样时间为 200 日龄左右, 在这一阶段, 猪的生长主要以脂肪积累为主, 脂肪的沉积速度已经高于肌肉的生长速度和骨骼的生长速度。而 GH 基因在脂肪细胞分化中起抑制作用, GH 可减少猪的脂肪沉积, 这种效应可能是直接的作用, 也可能通过 IGF-I 介导, 还可能存在独立的 IGF-I 作用途径。因此, 该基因型和 GH 基因表达的负相关可能造成了猪脂肪沉积量的上升, 从而引起猪后期体重增长的加快。从这方面推论则认为, 这两个相关的结论是一致的, A 等位基因的出现可能不利于 GH 的后期表达, 从而使脂肪沉积量相对增加, 后期体重增长快于含 B 等位基因的个体。

另一方面 GH 激素呈脉冲式分泌, 其分泌周期和分泌量因动物的种属、个体、所处时期的不同而有很大差异。成年雄性大鼠 GH 分泌峰值为 200~400 ng·ml⁻¹, 持续时间为 60~90 min, 分泌周期 3~4 h, 波谷期以低 GH 浓度 (<5 ng·ml⁻¹) 特点。而成年雌鼠表现出完全不同的分泌模式, GH 脉冲分泌峰值低,

频率较高,而且分泌节律不象雄鼠那样规则^[18]。虽然大白猪和中畜黑猪的采样时间均在凌晨 2:00~4:00,但个体的不同、性别不同以及生理状态的不同可能造成 GH 分泌量不在生理峰值的同一位置,导致 mRNA 的表达存在误差,以致产生相互矛盾的结果。由于本位点的多态对后期的 POU1F1 基因本身表达量无显著的相关关系,由此仅推论,该位点的多态性与 POU1F1 后期的表达量无相关,对 GH 表达量的影响可能不是由于 POU1F1 表达浓度的变化造成。

POU1F1 作为猪早期生长性状选择的候选基因之一,其多态性和生产性能的关系一直受到研究者的重视^[19-20]。以猪为研究对象的一系列研究中,POU1F1 多个位点的多态性在不同程度上都被证明和生长性状存在相关^[21]。但是,在不同的研究中,某一特定的突变位点对不同猪种同一性状的影响不完全一致^[22-23]。在本试验中,也多次出现类似的结果。这种不一致甚至相互矛盾的结论意味着 POU1F1 基因可能和其它基因间存在着紧密的联系^[24-26],单位点突变对生长性状的影响受到其它相关因素的制约甚至消减,因而在不同群体内有不同的表现。因此对 POU1F1 多态性和生长性能关系的研究仅停留在 DNA 水平是不够的,如果能够在 DNA 水平、RNA 水平^[27]、蛋白质水平同时对 POU1F1 基因进行分析,则可以大量去除其它基因、其它内外因素对动物体的干扰,更深入和准确地认识 POU1F1 基因各个多态位点对动物生理性状表现产生的影响。

4 结 论

POU1F1 第一内含子上的 PCR-SSCP 多态位点的产生是由于一个 C-T 突变造成。该位点的 AA 基因型和大型猪的屠宰前日增重存在显著的正相关,即突变位点的出现将导致屠宰前日增重的降低。在 RNA 水平上,该位点与 GH 基因的表达量呈显著相关(黑猪群体内),即突变位点的出现将导致 GH 的 mRNA 表达量升高,从生理学上可解释为由于 GH 分泌量的提高将导致脂肪沉积的减弱,由于较低的 GH 分泌量更有利于后期体重的增加,即该位点的突变等位基因的存在将提高 GH 分泌量,从而引起屠宰前日增重的降低。

References

[1] 高 岩. 垂体特异性转录因子研究进展. 国外医学内分泌学分册, 1995, 15(3): 116-120.

- Gao Y. Research progress of PIT-1. *Foreign Medical Sciences Endocrine Section*, 1995, 15(3): 116-120. (in Chinese)
- [2] 李宏滨, 曹红鹤, 郑友民. pit-1 基因在人、鼠及猪中的研究现状. 遗传, 2001, 23: 605-608.
- Li H B, Cao H H, Zheng Y M. The current study status of PIT-1 gene in humans, mice and pigs. *Hereditas(Beijing)*, 2001, 23: 605-608. (in Chinese)
- [3] Dattani M T, Robinson I C. The molecular basis for developmental disorders of the pituitary gland in man. *Clinical Genetics*, 2000, 57: 337-346.
- [4] Zhang K, Kulig E, Jin L, Lloyd R V. Effects of estrogen and epidermal growth factor on prolactin and Pit-1 mRNA in GH3 cells. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine*, 1993, 202: 193-200.
- [5] Andersen B, Pearce II R V, Jenne K, Sornson M, Lina S C, Bartke A, Rosenfeld M G. The Ames dwarf gene is required for Pit1 gene activation. *Developmental Biology*, 1995, 172: 495-503.
- [6] Buonomo F C, Baile C A. The neurophysiological regulation of growth hormone secretion. *Domestic Animal Endocrinology*, 1990, 7: 435-450.
- [7] 王 秩. Pit-1 基因突变与生长激素缺乏症. 国外医学内分泌学分册, 1999, 19(1): 1-4.
- Wang Z. Gene mutation of Pit-1 and growth hormone deficiency. *Foreign Medical Sciences Endocrine Section*, 1999, 19(1): 1-4. (in Chinese)
- [8] Song C Y, Gao B, Teng S H. Polymorphisms in intron 1 of the porcine POU1F1 gene. *Journal of Applied Genetics*, 2007, 48: 371-374.
- [9] 阳成波, 印遇龙, 龚建华, 郁 海, 黄瑞林, 李铁军. 实时定量 PCR 研究进展及其应用. 中国预防兽医学报, 2003, 25: 395-399.
- Yang C B, Yin Y L, Gong J H, Yu H, Huang R L, Li T J. The study progress and its applications of Real-time quantitative PCR. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2003, 25: 395-399. (in Chinese)
- [10] Hausman D B, Hausman G J, Martin R J. Endocrine regulation of fetal adipose tissue metabolism in the pig: interaction of porcine growth hormone and thyroxine. *Obesity Research*, 1999, 7: 76-82.
- [11] Chung H O, Kato T, Tomizawa K, Kato Y. Molecular cloning of pit-1 cDNA from porcine anterior pituitary and its involvement in pituitary stimulation by growth hormone-releasing factor. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 1998, 106(3): 203-210.
- [12] Hurley D L, Wojtkiewicz P W, Phelps C J. Growth hormone and Pit-1 mRNA detection using reverse transcription-polymerase chain

- reaction in adult and developing Ames dwarf mice. *Recent Progress in Hormone Research*, 1995, 50: 443-448.
- [13] 朱 娜. Pit-1 及 Prop-1 与联合垂体激素缺乏症. 国外医学内分泌学分册, 2004, 24(2): 122-124.
- Zhu N. Pit-1, Prop-1 and combined pituitary hormone deficiency. *Foreign Medical Sciences Endocrine Section*, 2004, 24(2): 122-124. (in Chinese)
- [14] 鲍丽颖, 黄耕培. GH-IGF-I 轴与骨发育的研究进展. 天津体育学院学报, 2002, 17 (2), 60-62.
- Bao L Y, Huang G P. The study progress of GH-IGF- I axis and bone development. *Journal of Tianjin University of Sport*, 2002, 17(2), 60-62. (in Chinese)
- [15] 陶 勇, 经荣斌, 任善茂, 宋成义, 张金存, 陈华才. 猪 GH 基因部分多态特征与早期体重的相关研究. 畜牧兽医学报, 2003, 34(3), 217-220.
- Tao Y, Jing R B, Ren S M, Song C Y, Zhang J C, Chen H C. The Study on the relationships between some polymorphism restriction sites of porcine GH gene and the early bodyweight. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2003, 34(3), 217-220. (in Chinese)
- [16] 宋成义, 经荣斌, 陶 勇, 高 波, 张金存, 陈华才, 黄富林, 杨元清. 猪 GH 基因部分突变位点对生产性能的影响. 遗传, 2001, 23 : 427-430.
- Song C Y, Jing R B, Tao Y, Gao B, Zhang J C, Chen H C, Huang F L, Yang Y Q. The effect on growth of some polymorphic restriction sites in porcine growth hormone gene locus. *Hereditas (Beijing)*, 2001, 23: 427-430. (in Chinese)
- [17] Janson J O, Eden S, Isaksson O. Several dimorphism in the control of growth hormone secretion. *Endocrine Reviews*, 1985, 6: 128-150.
- [18] Abrona J R, Marple D N, Russell R W, Rahe C H, Mulvaney D R, Sartin J L. Secretory patterns and metabolic clearance rate of porcine growth hormone in swine selected for growth. *Journal of Animal Science*, 1988, 66: 3068-3072.
- [19] Soren. Investigation of polymorphisms at gene in the growth hormone axis in cattle and pigs. Proceedings of 4th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production XII. Edinburgh: Edinburgh University Press, 1990: 151-154.
- [20] Yu T P, Rothschild M F, Tuggle C K. Rapid communication: a MspI restriction fragment length polymorphism at the swine PIT-1 locus. *Journal of Animal Science*, 1993, 71: 2275.
- [21] 俞沛初, 乔中东, 郭传甲, 华修国, 艾晓杰, 方心葵. 香猪 pit-1 基因内含子多态性的研究. 上海交通大学学报(农业科学版), 2004, 22(2): 109-114.
- Yu P C, Qiao Z D, Guo C J, Hua X G, Ai X J, Fang X K. Intron polymorphisms of PIT-1 gene in Xiang pig. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2004, 22(2): 109-114. (in Chinese)
- [22] Brunsch C, Sternstein I, Reinecke P and Bieniek J. Analysis of associations of PIT1 genotypes with growth, meat quality and carcass composition traits in pigs. *Journal of Applied Genetics*, 2002, 43(1): 85-91.
- [23] Stancekova K, Vasicek D, Peskovicova D, Bulla J, Kubek A. Effect of genetic variability of the porcine pituitary-specific transcription factor (PIT-1) on carcass traits in pigs. *Animal Genetics*, 1999, 30: 313-315.
- [24] 王 秩, 邓洁英, 史轶繁. 促生长素释放激素及细胞因子对垂体促生长素基因表达的调控及其与 pit-1 的关系. 中华内分泌代谢杂志, 2000, 16: 297-301.
- Wang Z, Deng J Y, Shi Z F. The effects of somatotropin releasing hormone and cytokines on pituitary somatotropin gene expression and their relationship with Pit-1. *Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2000, 16: 297-301. (in Chinese)
- [25] Wangsness P J, Martin R J, Gahagan J H. Insulin and growth hormone in lean and obese pigs. *American Journal of Pathology: Endocrinology and Metabolism*, 1976, 1233(2): 104-108.
- [26] Tsukahara S, Kambe F, Suganuma N, Tomoda Y, Seo H. Increase in Pit-1 mRNA is not required for the estrogen-induced expression of prolactin gene and lactotroph proliferation. *Journal of Endocrinology*, 1994, 41: 579-584.
- [27] 俞沛初, 乔中东, 郭传甲, 方心葵, 龚振明. 香猪垂体特异性转录因子基因及其相关基因表达水平的半定量分析. 养猪, 2004, (3): 21-23.
- Yu P C, Qiao Z D, Guo C J, Fang X K, Gong Z M. The semi-quantitative analysis in expression quantity of Pit-1 gene and related genes in Xiang pigs. *Swine Production*, 2004, (3): 21-23. (in Chinese)