

PML 基因 SNP 与柯乐猪繁殖性状的关联分析

付红梅¹, 张游宇², 杨齐心², 杨红文², 顾丽菊³, 肖礼华^{4*}, 张依裕^{1*}

(1. 贵州大学动物科学学院, 高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 贵州省动物遗传育种与繁殖重点实验室, 贵州大学香猪研究所, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州省畜禽遗传资源管理站, 贵州贵阳 550001; 3. 贵州优农谷生态产业有限公司, 贵州赫章 553299; 4. 遵义市畜牧渔业站, 贵州遵义 563006)

摘要: 试验选取 240 头健康的经产柯乐猪, 利用 PCR 扩增和 Sanger 测序法筛选 PML 基因的 SNP; 使用 SPSS 27.0 软件对 SNP 位点与柯乐猪的繁殖性状进行关联性分析; 使用在线软件 RNAfold、SHEsis、STRING 等对 SNP 位点进行生物信息学分析。结果发现 PML 基因第 2 外显子的 g.59407427 A>C、第 7 内含子的 g.59444512 G>A 以及第 8 内含子的 g.59444894 A>G。连锁不平衡分析显示 g.59407427 A>C 和 g.59444894 A>G 之间存在强连锁关系 ($r^2>0.88$)。单倍型分析显示共存在 4 种单倍型和 8 种双倍型, 群体优势双倍型为 H1H1 (AAAAGG)。进一步与繁殖性状关联分析显示, 3 个 SNP 对总产仔数、产活仔数、初生窝重、断奶仔猪数和断奶窝重均有显著影响, 双倍型 H2H3 (AAAGAG) 个体的产活仔数、初生窝重、断奶窝重和断奶仔猪数均高于其他双倍型, 为群体有利双倍型; g.59407427 A>C 没有导致氨基酸序列的改变, 但 mRNA 二级结构发生了变化, 影响了结构稳定性。在 PML 蛋白互作蛋白网络中主要互作蛋白 DAXX、RARA、RUNX1、SUMO1、SPI1 与免疫功能、发育调控和抗病性密切相关, 为后续研究基因功能和调控机制提供了方向。本研究发现了 3 个对柯乐猪繁殖性状有显著影响的 SNP, 可作为柯乐猪繁殖性状选育的遗传标记进一步研究。

关键词: PML 基因; SNP; 柯乐猪; 繁殖性状

中图分类号: S828.2

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250917-05

柯乐猪属于云贵高原的地方特色猪种, 乌金猪类群之一, 主产于贵州省西北部高寒山区, 肉质香糯, 耐寒耐粗饲, 是贵州本地优良种质资源之一^[1]。繁殖性状是母猪选育的重点关注性状, 其高低直接影响猪场生产效益和经济利益, 但猪的繁殖性状属于低遗传力性状, 受环境影响较大, 传统育种方法改良进展缓慢, 目前通过

基因标记辅助选择优良种群进行种群繁育是快速提高母猪繁殖性状的有效方法^[2]。本研究涉及柯乐猪群体繁殖性状的平均水平如下: 总产仔数为 8.85 ± 2.777 头, 产活仔数为 8.09 ± 2.95 头, 初生窝重为 8.36 ± 3.11 kg, 断奶仔猪数为 6.85 ± 2.61 头, 断奶窝重为 38.15 ± 15.32 kg。总体上, 该群体繁殖性能处于地方猪品种的中等偏上水平, 群体变异系数介于 19.8%~40.2% 之间, 表明群体内存在较高的遗传变异度, 适合开展基因多态性与繁殖性状的关联分析。早幼粒细胞白血病基因 (Promyelocytic Leukemia Gene, PML) 最早发现于急性早幼粒细胞白血病 (Acute Promyelocytic Leukemia, APL) 患者中, 主要编码一种核蛋白, 能聚集在细胞核的特殊结构上, 形成 PML 核体 (PML Nuclear Bodies, PML-NBs), PML 基因可通过 PML 核体调控细胞凋亡衰老、基因组稳定、抗病毒反应, 并发挥重要的肿瘤抑制作用^[3-5]。在鼠类成熟的精子和卵细胞中, 发现了含有 PML 的部分转录本^[6]。PML 缺失小鼠的乳腺发育表现出上皮干祖细胞的比例变化以及分泌功能发育延迟。这一结论虽

收稿日期: 2025-09-17; 修回日期: 2025-10-13

资助项目: 贵州省生猪产业科技创新项目 (黔农计财 [2025]9 号、黔农计财 [2024]33 号); 贵州省生猪产业技术体系健康养殖功能实验室和遵义综合试验站建设项目 (GZSZCYJSTX-03、GZSZCYJSTX-07); 国家重点研发计划子课题 (2022YFD1100308-01); 贵州省科技计划项目 (黔科合平台人才 [2021]5630 号); 贵州省科技支撑计划 (黔科合支撑 [2021] 一般 147)

作者简介: 付红梅 (2000-), 女, 贵州凤冈县人, 硕士研究生, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖, E-mail: 15185311729@163.com

* 通信作者: 张依裕 (1976-), 男, 贵州黔西市人, 博士, 教授, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖, E-mail: zyy8yyc@163.com; 肖礼华 (1977-), 男, 贵州遵义人, 博士, 正高级畜牧师, 研究方向为畜牧技术推广, E-mail: 27292665@qq.com

与生殖能力无直接联系，但乳腺与哺乳在哺乳类动物的育儿阶段十分重要^[7]。敲低 *PML* 表达会导致胚胎干细胞中多种与多能性相关的蛋白表达下调，可能影响胚胎发育与植入^[8-9]。*PML* 敲低的小鼠在某些氧化应激情形下表现出不同的耐受性，提示 *PML* 在应激条件下对发育相关细胞命运有重要调控意义^[10]。人类蛋白质图谱项目系统检测了 *PML* 蛋白在人体组织中的分布，在卵巢、睾丸、胎盘等组织中均有可检测的表达信号^[11]。以上研究提示 *PML* 基因可能从多个方面影响胚胎发育与繁殖性状，本研究旨在通过挖掘 *PML* 基因在猪群中的多态性及其与繁殖性状的关联，拓展猪繁殖性状的分子遗传基础研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料 本研究所用试验动物为贵州省赫章县柯乐猪保种场的 240 头健康经产母猪，胎次为 2~4 胎，18~26 月龄，体重 40~55 kg，健康状况良好，无疾病或疫病史，饲养管理条件一致。母猪采用圈养方式，自由采食与饮水，饲料配方符合《国家猪饲养标准》（NY/T 65-2004）。所有母猪均采用人工授精配种，公猪来源一致，确保父本遗传背景统一；妊娠期间均未出现返情、流产或死胎异常情况。产后 2 h 内记录各母猪的总产仔数（包括活仔、死胎及木乃伊胎）、产活仔数及初生窝重（仔猪未吸乳前称重）。仔猪 28 日龄断奶时，记录断奶仔猪数（不含寄养仔猪）及断奶窝重（空腹状态下称重）。每头母猪采集 0.5 g 耳组织样本，置于 75% 乙醇中，于冰上保存并带回实验室，长期于 -80℃ 冰箱储存备用。

1.2 DNA 提取 使用天根生化科技（北京）有限公

司提供的组织 DNA 提取试剂盒（DP304-02）提取 240 份柯乐猪耳组织的 DNA，用超微量分光光度计（NanoDropOne）检测基因组 DNA 浓度和纯度，检验后将合格样品于 -20℃ 冰箱保存备用。

1.3 引物设计 在 NCBI 中查找并获取猪 *PML* 基因全基因序列（登录号：NC_010449.5），利用 Primer Premier 5.0 软件设计 5 对引物序列，引物序列如表 1 所示。引物由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

1.4 PCR 扩增 PCR 扩增体系为 20 μL：2×Taq PCR Master Mix 10 μL，上下游引物（10 μmol/L）各 1 μL，DNA 模板（10 μmol/L）1 μL，RNase-free H₂O 7 μL。PCR 反应程序为：94℃ 预变性 8 min；94℃ 变性 30 s，最适退火温度退火 30 s，72℃ 延伸 30 s，共 32 个循环，72℃ 终延伸 8 min，最后 4℃ 保存。PCR 混合池扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶检测其 DNA 完整性、浓度和纯度，凝胶成像仪上查看电泳结果，选择条带完整明亮、浓度纯度均合格的引物对 240 个柯乐猪 DNA 样品进行 PCR 扩增，扩增产物送至生工生物工程（上海）股份有限公司进行 sanger 测序。

1.5 统计分析与生物信息学分析 Chromas 软件分析 240 个样品测序峰图，Excel 2019 统计基因分型结果及 SNP 并计算各 SNP 的基因型频率、等位基因频率、遗传杂合度（*He*）、有效等位基因数（*Ne*）、多态信息含量（*PIC*）；SPSS27.0 软件分析 SNP 与双倍型和繁殖性状的相关性，结果以平均值 ± 标准差格式表示，*P*<0.05 和 *P*<0.01 作为差异显著和差异极显著的判断标准。卡方适合性检验（ χ^2 ）分析 Hardy-Weinberg 平衡。使用 SHEsis 在线软件（<http://analysis.bio-x.cn/>）对 SNP 进行连锁不平衡分析（Linkage Disequilibrium，

表 1 *PML* 基因引物序列信息

引物名称	引物序列（5'→3'）	扩增片段区间，bp	温度，℃
<i>PML</i>	F1	AGTAAACGGAGGATTGGGGT	58
	R1	TATCATCACCCTGACGCA	
	F2	ACCATAACCACAGACACTCC	54
	R2	TCCACTACTCCTCCTTTCCC	
	F3	ATACGGTACAGAGAGAGGCAC	60
	R3	TCTGGGAGAGACCCCATCT	
	F4	GTTCACAAACAGACACGACC	60
	R4	CCAAGGCTCCGTAAGAGAAG	
	F5	TCTGGATGGTGAGATTGGC	58
	R5	TACCTGGAATGCTGTGAGG	

LD) 和单倍型 (Haplotype) 分析, RNAfold Web Server 在线网站(<http://nibiru.Tbi.univie.ac.at/cgi-bin/RNAWebSuite/RNAfold.cgi>) 预测 mRNA 最小自由能二级结构和质心二级结构, STRING 在线数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 进行互作蛋白网络预测。

2 结果与分析

2.1 柯乐猪 *PML* 基因 SNP 位点鉴定 通过对 240 个样品 PCR 产物的测序结果进行基因分型和比对分析, 共发现 g.59407427 A>C、g.59444512 G>A、g.59444894 A>G 3 个 SNP 突变位点 (图 1), 均存在 3 种基因型。其中 g.59407427 A>C 位于第 2 外显子, 编码氨基酸密码子由 TCA 突变为 TCC, 编码氨基酸均为丝氨酸 (S), 为同义突变; g.59444512 G>A 位于第 7 内含子区域、g.59444894 A>G 位于第 8 内含子区域。

2.2 柯乐猪 *PML* 基因 SNP 遗传学特性分析 对柯乐猪 *PML* 基因 SNP 进行遗传学特性分析 (表 2)。结果显示:

g.59407427 A>C、g.59444512 G>A、g.59444894 A>G 的优势基因型分别为 AC、AA、GG, 突变基因型较野生基因型更占优势; 观测杂合度分别为 0.492、0.346、0.423, 遗传多样性一般, 群体中的变异程度较低; 有效等位基因数分别为 1.967、1.530、1.734, 等位基因分布较为均匀; 多态信息含量分别为 0.370、0.286、0.334, 均表现为中度多态 ($0.25 < PIC < 0.5$), 说明能够提供一定的遗传信息。卡方 (χ^2) 适合性检验结果表明, g.59407427 A>C 位点基因型分布极显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 位点 g.59444512 G>A、g.59444894 A>G 符合 Hardy-Weinberg 平衡。

2.3 柯乐猪 *PML* 基因 SNP 连锁不平衡分析 对柯乐猪 *PML* 基因的 3 个 SNP 位点进行连锁不平衡分析 (表 3)。结果显示, g.59407427 A>C 与 g.59444894 A>G 之间存在强连锁不平衡效应 ($D' > 0.800$, $R^2 > 0.330$), 其余位点之间不存在连锁关系。

2.4 柯乐猪 *PML* 基因 SNP 单倍型分析 对柯乐猪 *PML*

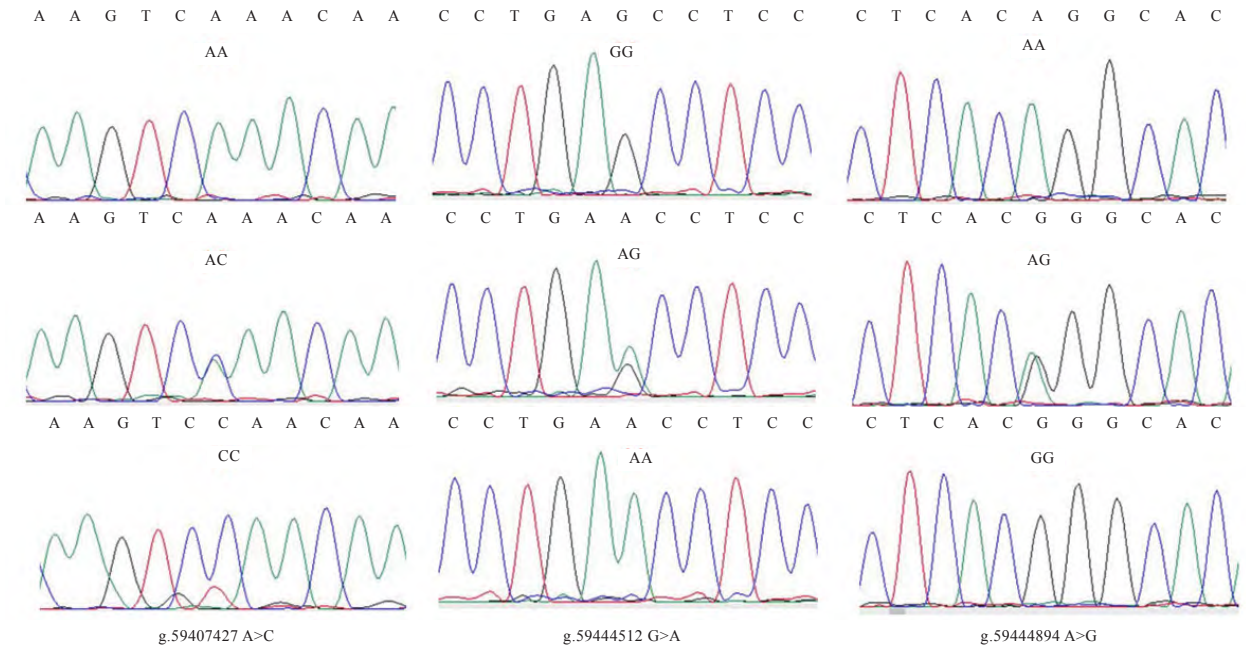


图 1 *PML* 基因 SNP 位点

表 2 *PML* 基因 SNP 群体遗传信息

SNP 位点		基因型频率		等位基因频率		<i>He</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	χ^2
g.59407427 A>C	AA (59)	AC (91)	CC (90)	A	C	0.492	1.967	0.370	12.564
	0.246	0.379	0.375	0.435	0.565				
g.59444512 G>A	AA (149)	AG (75)	GG (16)	A	G	0.346	1.530	0.286	2.305
	0.621	0.313	0.067	0.777	0.223				
g.59444894 A>G	AA (26)	AG (94)	GG (120)	A	G	0.423	1.734	0.334	1.340
	0.108	0.392	0.500	0.304	0.696				

注: *He* 为观测杂合度, *Ne* 为有效等位基因数, *PIC* 为多态信息含量, χ^2 为卡方检验值。df=2, $\chi^2 (0.05) = 5.991$, $\chi^2 (0.01) = 9.210$ 。

表 3 <i>PML</i> 基因 SNPs 位点连锁不平衡分析			
SNP 位点	g.59407427 A>C	g.59444512 G>A	g.59444894 A>G
g.59407427 A>C		1.000	1.000
g.59444512 G>A	0.221		1.000
g.59444894 A>G	0.337	0.125	

注：上三角为 D' 值，下三角为 R^2 值。

基因 3 个 SNP 位点进行单倍型分析（表 4）。结果共检测到 4 种单倍型和 8 种双倍型。单倍型 H1（0.435）为优势单倍型，单倍型 H4（0.038）为劣势单倍型；双倍型 H1H1（0.246）为优势双倍型，双倍型 H3H4（0.033）为劣势双倍型。在群体的功能适应性或进化保守性中，H1 型个体可能更具有优势。

表 4 <i>PML</i> 基因单倍型与双倍型分析					
类型	基因型	g.59407427 A>C	g.59444512 G>A	g.59444894 A>G	频率
单倍型	H1（209）	A	A	G	0.435
	H2（146）	C	A	A	0.304
	H3（107）	C	G	G	0.223
	H4（18）	C	A	G	0.038
双倍型	H1H1（59）	AA	AA	GG	0.246
	H1H2（54）	AC	AA	AG	0.225
	H1H3（37）	AC	AG	GG	0.154
	H2H2（26）	CC	AA	AA	0.108
	H2H3（30）	AA	AG	AG	0.125
	H2H4（10）	CC	AA	AG	0.042
	H3H3（16）	CC	GG	GG	0.067
	H3H4（8）	CC	AG	GG	0.033

2.5 柯乐猪 *PML* 基因 SNP 与繁殖性状的关联性分析
对柯乐猪 *PML* 基因的 3 个 SNP 位点与柯乐猪繁殖性状进行关联性分析，结果显示（表 5），g.59407427 A>C 位点 AC 基因型的初生窝重极显著低于 AA 基因型和 CC 基因型个体；g.59444512 G>A AG 基因型个体的产

活仔数、断奶仔猪数、断奶窝重显著高于 GG 基因型，AG 基因型的初生窝重极显著高于 GG 基因型。
2.6 柯乐猪 *PML* 基因双倍型与繁殖性状的关联性分析
对柯乐猪 *PML* 基因的双倍型与繁殖性状进行关联性分析（表 6）。结果显示：各双倍型的总产仔数之间无显著性差异；H1H3、H2H2、H2H3 的产活仔数显著高于 H1H1、H2H4 和 H3H3；H1H3 的初生窝重显著高于 H1H1、H2H3、H2H4、H3H3，H1H2、H2H2 和 H2H3 均显著高于 H2H4 和 H3H3；H1H2、H2H2、H2H3 的断奶仔猪数显著高于 H1H1、H2H4、H3H3；H1H2、H2H3 的断奶窝重显著高于 H1H1、H1H3、H2H2、H2H4、H3H3，H1H1 显著高于 H1H3、H2H4、H3H3。
2.7 柯乐猪 *PML* 基因 mRNA 二级结构预测 使用在线工具 RNAfold 预测第 2 外显子的 g.59407427 A>C 突变前后 *PML* 基因 mRNA 最小自由能二级结构与质心二级结构。结果显示（图 2、图 3），二级结构突变前最小自由能（Minimum Free Energy, MFE）为 -2 568.20 kcal/mol，突变后 MFE 为 -2 569.60 kcal/mol，结构上未有明显变化。质心二级结构突变前 MFE 为 -2 142.70 kcal/mol，突变后 MFE 为 -2 115.30 kcal/mol，结构变化之处已用圆圈标注。
2.8 柯乐猪 *PML* 蛋白互作蛋白网络预测 使用在线软件 STRING 进行 *PML* 蛋白互作蛋白网络预测（互作评分 ≥ 0.7 ）。结果显示（图 4），互作评分 ≥ 0.7 的蛋白共有 8 个，其中与 *PML* 蛋白互作评分 ≥ 0.9 的有视黄酸受体 α （Retinoic Acid Receptor Alpha, RARA）（互作评分 =0.963），与维生素 A（视黄酸）结合，调控基因转录；小泛素相关修饰物 1（Small Ubiquitin-related Modifier 1, SUMO1）（互作评分 =0.950）是一种小分子修饰蛋白，可通过 SUMO 化修饰调节其他蛋白的稳

表 5 <i>PML</i> 基因 SNP 与柯乐猪繁殖性状的关联性分析						
SNP 位点	基因型	总产仔数，头	产活仔数，头	初生窝重，kg	断奶仔猪数，头	断奶窝重，kg
g.59407427 A>C	AA（59）	8.475±2.208	7.864±2.232	7.665±2.097 ^A	6.441±1.994	37.848±13.716
	AC（91）	8.813±2.773	8.385±2.703	9.039±3.466 ^B	6.824±2.327	37.730±13.493
	CC（90）	8.667±2.945	8.267±3.053	7.767±3.076 ^A	6.778±3.079	37.214±17.821
g.59444512 G>A	AA（149）	8.732±2.735	8.107±2.717 ^{ab}	8.057±2.806 ^{ABb}	6.678±2.526 ^{ab}	37.285±13.970 ^{ab}
	AG（75）	8.800±2.433	8.680±2.428 ^a	8.955±3.435 ^{Aa}	7.013±2.239 ^a	39.758±17.021 ^a
	GG（16）	7.563±3.502	7.000±3.795 ^b	6.359±3.036 ^{Bc}	5.625±3.879 ^b	29.906±16.223 ^b
g.59444894 A>G	AA（26）	9.115±3.241	8.885±2.930	8.579±2.269	7.154±2.509	35.623±12.397
	AG（94）	8.904±2.688	8.362±2.762	8.196±3.413	6.989±2.876	39.798±17.091
	GG（120）	8.400±2.588	7.950±2.656	8.169±2.985	6.400±2.277	36.238±14.141

注：肩标不同小写字母表示组间存在显著差异（ $P<0.05$ ），不同大写字母表示组间存在极显著差异（ $P<0.01$ ）；相同字母表示组间无相应水平差异。下同。

表 6 *PML* 基因双倍型与柯乐猪繁殖形状的相关性分析

双倍型	总产仔数, 头	产活仔数, 头	初生窝重, kg	断奶仔猪数, 头	断奶窝重, kg
H1H1 (59)	8.475±2.208	7.864±2.232 ^b	7.665±2.097 ^{bc}	6.441±1.994 ^b	37.848±13.716 ^b
H1H2 (54)	8.944±2.674	8.278±2.595 ^{ab}	8.625±3.293 ^{ab}	6.982±2.610 ^a	39.245±12.929 ^a
H1H3 (37)	8.622±2.938	8.541±2.883 ^a	9.643±3.666 ^a	6.595±1.848 ^{ab}	35.518±14.162 ^c
H2H2 (26)	9.115±3.241	8.885±2.930 ^a	8.579±2.269 ^{ab}	7.154±2.509 ^a	35.623±12.397 ^c
H2H3 (30)	9.100±2.006	9.100±2.006 ^a	8.175±3.321 ^b	7.600±2.660 ^a	44.829±20.353 ^a
H2H4 (10)	8.100±4.332	6.600±4.575 ^b	5.945±3.775 ^c	5.200±4.211 ^b	27.690±21.218 ^c
H3H3 (16)	7.563±3.502	7.000±3.795 ^b	6.359±3.036 ^c	5.625±3.879 ^b	29.906±16.223 ^c
H3H4 (8)	8.500±0.926	7.750±1.035 ^b	8.694±2.179 ^{ab}	6.750±1.909 ^{ab}	40.350±10.457 ^{ab}

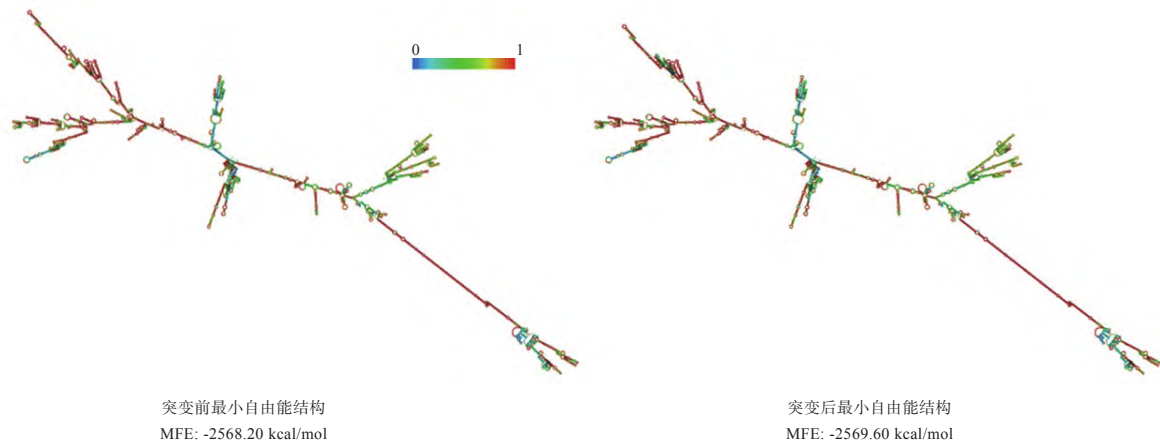


图 2 *PML* 基因 mRNA 最小自由能二级结构预测结果

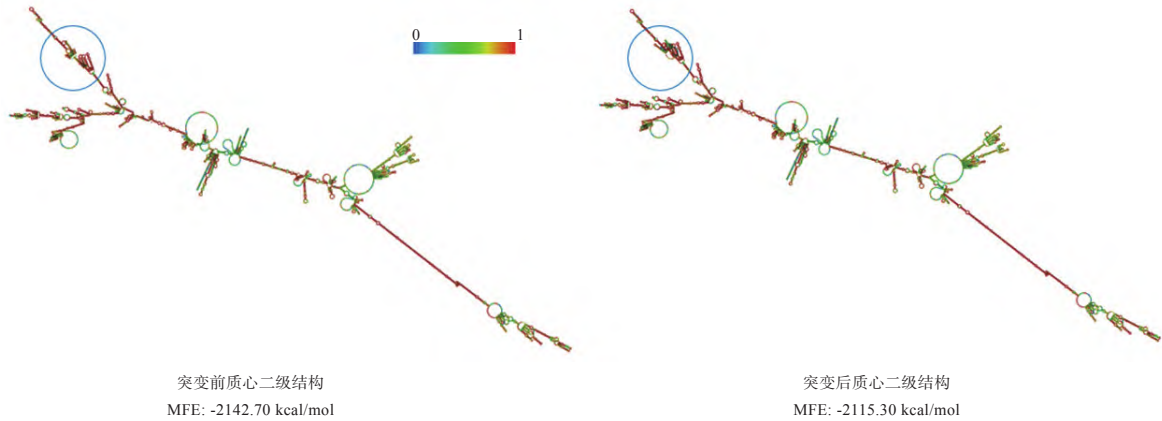


图 3 *PML* 基因 mRNA 质心二级结构预测结果

定性、定位和活性；Runt 相关转录因子 1（Runt-related Transcription Factor 1，RUNX1）（互作评分 =0.915）在猪基因组中保守存在，主要调控造血和免疫系统发育；死亡结构域相关蛋白（Death Domain Associated Protein，DAXX）（互作评分 =0.908）在猪基因组中已注释，主要定位在细胞核，参与细胞凋亡调控、应激反应和转录调控；转录因子 PU.1（Transcription Factor

PU.1，SPI1）（互作评分 =0.906）属于免疫细胞发育与功能核心转录因子。

3 讨论

本研究在 *PML* 基因中共筛选到 3 个 SNP 位点：g.59407427 A>C、g.59444512 G>A 和 g.59444894 A>G，均属于中度多态，说明其发生群体变异的程度相

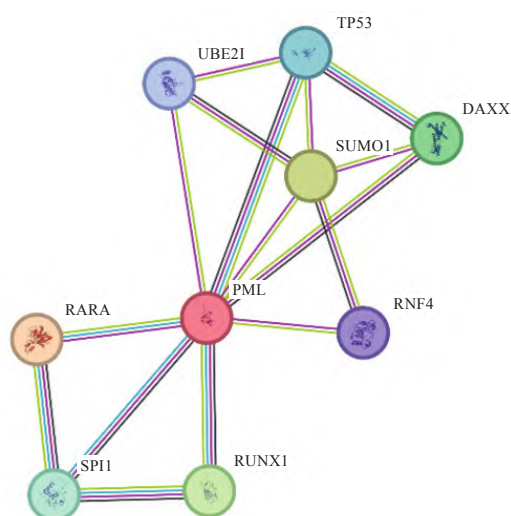


图 4 PML 蛋白互作蛋白网络预测结果

对较小,可能与群体长期在本品种间选育有关系。*PML* 基因在柯乐猪群体中存在一定的遗传多样性,优势双倍型 H1 (AAAAGG) 可能在群体中更稳定。与繁殖性状关联分析发现, g.59407427 A>C 对初生窝重有显著影响, g.59444512 G>A 的产活仔数、断奶仔猪数、初生窝重与 g.59407427 A>C 与 g.59444894 A>G 存在显著性差异, g.59407427 A>C 与 g.59444894 A>G 之间存在强连锁不平衡效应,推测这 2 个 SNP 可能属于同一个遗传区块。*PML* 双倍型对仔猪的存活和生长性状有显著影响,但对总产仔数影响不显著, H1H3、H2H2、H2H3 可能是繁殖性能优良的组合,可用于后续选育。*PML* 基因可能通过调控胎儿发育、胎盘功能或母体乳汁能力影响仔猪生长和成活,而不影响排卵数或胚胎数量。

通过 RNAfold 预测 *PML* 基因第 2 外显子 g.59407427 A>C 突变前后的 mRNA 二级结构,突变前后 MFE 变化极小,整体结构无明显差异,说明该 SNP 对 mRNA 核心稳定性影响有限。质心二级结构最小自由能从 -2 142.70 kcal/mol 升至 -2 115.30 kcal/mol,且结构发生了局部变化,该 SNP 可能降低 mRNA 平均稳定性^[12]。g.59407427 A>C 对 *PML* mRNA 的局部折叠、翻译效率或 RNA-蛋白互作可能具有潜在调控作用^[13]。g.59444512 G>A 与 g.59444894 A>G 为内含子上的 SNP,可能通过剪接调控改变 mRNA 转录效率与蛋白质的成熟加工与表达进而影响柯乐猪繁殖性状^[14-16]。

使用 STRING 在线数据库对 *PML* 蛋白进行互作预测(互作评分 ≥ 0.7),结果显示共有 8 个高分互作蛋白,其中与 *PML* 互作评分 ≥ 0.9 的核心蛋白 RARA、

SUMO1、RRUNX1、DAXX 和 SPI1。其中, RARA 作为核受体可结合视黄酸调控基因转录, *PML* 可能通过与 RARA 的互作参与激素依赖性基因调控^[17]; SUMO1 可对 *PML* 进行 SUMO 化修饰,调节其核小体形成及功能,提示 *PML* 互作网络可能依赖蛋白翻译后修饰,此外, *PML*-RARA 融合蛋白也能被 SUMO-1 修饰,导致其特异性降解^[18-19]; RUNX1 和 SPI1 均为核心转录因子,分别参与造血及免疫细胞发育, *PML* 可能在细胞分化和命运调控中发挥作用^[20]; DAXX 主要参与凋亡和转录调控,与 *PML* 核内共定位可能维持细胞稳态^[21]。这些互作关系表明, *PML* 在细胞核内可能作为一个多功能调控枢纽,通过转录调控、蛋白修饰及细胞存活机制协调细胞功能。在繁殖调控上, *PML* 可能通过上述互作影响卵巢或胚胎组织中的基因表达和细胞稳态,从而对繁殖性状产生潜在调控作用,为后续功能验证提供了理论依据。GO 富集分析显示这些蛋白在细胞凋亡、DNA 损伤响应、蛋白质修饰、昼夜节律、细胞分化调控等多个生物学过程中存在富集,为后续研究基因功能和调控机制提供了方向。

本研究中,柯乐猪群体的总产仔数为 8.85 ± 2.77 头,产活仔数为 8.09 ± 2.95 头,表现为中等繁殖水平。与大白猪等高产商品猪相比仍存在一定差距,但其变异系数(31.3%~40.2%)较高,表明群体内存在较大的选育潜力。较高的遗传变异为后续繁殖性状分子标记筛选与遗传改良提供了基础,通过选育高繁殖力个体和优化管理制度,群体繁殖性能仍具有较大的改进空间。近年来,分子标记辅助选育和杂交配套系开发已取得显著进展, *XDH*、*TACR3*、*CRISP3*、*BMP7*、*OPN*、*METTL23*、*KRT10*、*QDPR* 等多个基因已被验证存在与繁殖性状相关的分子标记^[22-30];二元杂交组合和三元杂交配套系的使用显著提高了生长速度和猪肉品质^[31-32]。目前针对地方猪种如柯乐猪的营养调控与环境优化研究仍相对不足,未来可在保种的基础上,结合生产环境管理、精准营养调控与 BLUP 育种值估计,整合分子标记信息,实施综合育种策略,以期在保持优良肉质特性的同时提升繁殖效率,充分发挥地方品种的遗传优势。

4 结 论

本研究在柯乐猪 *PML* 基因上共发现 3 个 SNP 位点(g.59407427 A>C、g.59444512 G>A、g.59444894

A>G)。通过关联性分析以及生物信息学分析,3个SNP均与柯乐猪繁殖性状相关联,可作为未来柯乐猪分子选育的可能靶点进行后续研究。PML蛋白主要互作蛋白在细胞凋亡、DNA损伤响应、蛋白质修饰、昼夜节律、细胞分化调控等多个生物学过程中存在富集,为后续研究基因功能和调控机制提供了方向。

参考文献:

- [1] 向进,王春源,罗华伦,等.柯乐猪 *METTL23* 基因多态性与繁殖性能的关联性分析[J].农业生物技术学报,2024,32(7): 1577-1586.
- [2] 钟欣,张晖,张充,等.母猪繁殖力基因遗传育种研究进展[J].畜牧兽医学报,2024,55(2): 438-450.
- [3] Guan D, Kao H. The function, regulation and therapeutic implications of the tumor suppressor protein, PML[J]. Cell Biosci, 2015, 5: 60.
- [4] Vernier M, Bourdeau V, Gaumont-Leclerc M, et al. Regulation of E2Fs and senescence by PML nuclear bodies[J]. Genes Dev, 2011, 25(1): 41-50.
- [5] Louria-Hayon I, Alsheich-Bartok O, Levav-Cohen Y, et al. E6AP promotes the degradation of the PML tumor suppressor[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(8): 1156-1166.
- [6] Ebrahimian M, Mojtahedzadeh M, Bazett-Jones D, et al. Transcript isoforms of promyelocytic leukemia in mouse male and female gametes[J]. Cells Tissues Organs, 2010, 192(6): 374-381.
- [7] Li W, Ferguson B J, Khaled W T, et al. PML depletion disrupts normal mammary gland development and skews the composition of the mammary luminal cell progenitor pool[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(12): 4725-4730.
- [8] Spanou S, Makatounakis T, Filippopoulou C, et al. Promyelocytic leukemia protein (PML) regulates stem cell pluripotency through novel sumoylation targets[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(3): 1145.
- [9] Hsu K, Kao H. PML: regulation and multifaceted function beyond tumor suppression[J]. Cell Biosci, 2018, 8: 5.
- [10] Niwa-Kawakita M, Ferhi O, Soilihi H, et al. PML is a ROS sensor activating p53 upon oxidative stress[J]. J Exp Med, 2017, 214(11): 3197-3206.
- [11] Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom B M, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome[J]. Science, 2015, 347(6220): 1260419.
- [12] Chamary J V, Parmley J L, Hurst L D. Hearing silence: non-neutral evolution at synonymous sites in mammals[J]. Nat Rev Genet, 2006, 7(2): 98-108.
- [13] Zabolotskii A I, Kozlovskiy S V, Katrukha A G. The influence of the nucleotide composition of genes and gene regulatory elements on the efficiency of protein expression in escherichia coli[J]. Biochemistry (Mosc), 2023, 88(Suppl 1): S176-S191.
- [14] Mauger D M, Cabral B J, Presnyak V, et al. mRNA structure regulates protein expression through changes in functional half-life[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(48): 24075-24083.
- [15] Pagani F, Baralle F E. Genomic variants in exons and introns: identifying the splicing spoilers[J]. Nat Rev Genet, 2004, 5(5): 389-396.
- [16] Ward L D, Kellis M. Interpreting noncoding genetic variation in complex traits and human disease[J]. Nat Biotechnol, 2012, 30(11): 1095-1106.
- [17] Fukuoka T, Kawai A, Takahara T, et al. PML-RARalpha induces all-trans retinoic acid-dependent transcriptional activation through interaction with MED1[J]. Transcription, 2019, 10(3): 147-156.
- [18] Hirano S, Udagawa O. SUMOylation regulates the number and size of promyelocytic leukemia-nuclear bodies (PML-NBs) and arsenic perturbs SUMO dynamics on PML by insolubilizing PML in THP-1 cells[J]. Arch Toxicol, 2022, 96(2): 545-558.
- [19] Meinecke I, Cinski A, Baier A, et al. Modification of nuclear PML protein by SUMO-1 regulates Fas-induced apoptosis in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(12): 5073-5078.
- [20] Li G L, Hao W K, Hu W X. Transcription factor PU.1 and immune cell differentiation (Review)[J]. Int J Mol Med, 2020, 46(6): 1943-1950.
- [21] Salomoni P. The PML-interacting protein DAXX: histone loading gets into the picture[J]. Front Oncol, 2013, 3: 152.
- [22] 向进,吴燕,王春源,等.柯乐猪 *BMP7* 基因 SNP 位点与繁殖性能的关联分析[J].南方农业学报,2024,55(8): 2495-2503.
- [23] 向进,熊力,李维,等.柯乐猪 *XDH* 基因多态性鉴定及其对繁殖性状的影响[J].南方农业学报,2024,55(6): 1863-1872.
- [24] 曾辅琴,谭元成,黄雯,等.柯乐猪 *TAC3R* 基因 SNP 位点鉴定及其对繁殖性状的影响[J].南方农业学报,2024,55(5): 1502-1509.
- [25] 向进,王春源,吴燕,等.柯乐猪 *CRISP3* 基因 SNP 鉴定及其对繁殖性状的影响[J].浙江农业学报,2024,36(6): 1270-1278.
- [26] 吴燕,罗华伦,杨红文,等.柯乐猪 *OPN* 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析[J].中国畜牧杂志,2024,60(8): 262-269.
- [27] 吴燕,王春源,向进,等. *QDPR* 基因多态性对柯乐猪繁殖性状的影响[J].中国畜牧杂志,2024,60(9): 216-223.
- [28] 王倩倩,赵永,杨齐心,等.柯乐猪 *BMP7* 基因 SNP 位点鉴定及其与繁殖性状的关联分析[J].江苏农业学报,2025,41(8): 1559-1565.
- [29] 谭元成. *KISS1*、*TAC3* 和 *TACR3* 基因多态、表达对柯乐猪繁殖性状的影响[D].贵阳:贵州大学,2023.
- [30] 赵永,杨齐心,李维,等.柯乐猪 *KRT10* 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析[J].中国畜牧兽医,2024,51(6): 2508-2516.
- [31] 杨莲,燕志宏,黄维江,等.纯种柯乐猪与巴×柯杂交猪肠道菌群结构的研究[J].动物营养学报,2021,33(3): 1359-1371.
- [32] 黄维江.苏太猪、巴克夏猪与柯乐猪杂交试验研究及应用[D].贵阳:贵州大学,2020.

(责任编辑:石丽丹)