

五指山小型猪 *PPAR γ 2* 基因启动子多态性分析

潘金春^{1,2}, 闵凡贵^{1,2}, 王希龙^{1,2*}

(1. 广东省实验动物监测所, 广州 510663; 2. 广东省实验动物重点实验室, 广州 510663)

【摘要】 目的 对五指山小型猪 *PPAR γ 2* 基因启动子调控区域多态性进行分析。**方法** 根据猪 *PPAR γ 2* 启动子调控区域 2200 bp 设计 5 对引物, 对 57 头封闭群五指山小型猪的多态性进行检测, 并用多种生物信息学软件对调控区域的启动子、转录因子结合位点、RNA 二级结构、CpG 岛进行预测分析。**结果** 筛选到 9 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点, 分别是: -1595T/C、-1534G/A、-1262C/A、-1220C/A、-1017A/G、-963A/G、-955G/A、-866A/G、-333G/A。SNPs 都没有处在软件识别的启动子区域中, 但 -333G/A 突变位于核心启动子 (-656 ~ -23 bp) 区域。突变的 SNP 位点附近转录因子结合位点会发生改变, 突变前后 RNA 二级结构最小自由能发生变化, 其结构也发生显著变化。目标序列未找到 CpG 岛。**结论** 筛选到的五指山小型猪 *PPAR γ 2* 启动子调控区域 SNPs 可能对该基因的表达调控产生影响, 为进一步研究其功能奠定基础。

【关键词】 五指山小型猪; *PPAR γ 2*; 启动子; 单核苷酸多态性; 生物信息学

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 09-0021-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.09.004

Analysis of polymorphisms in the promoter region of the *PPAR γ 2* gene in Wuzhishan minipigs

PAN Jinchun^{1,2}, MIN Fangui^{1,2}, WANG Xilong^{1,2*}

(1. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510663, China.

2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Laboratory Animals, Guangzhou 510663)

【Abstract】 Objective To screen the polymorphisms of the promoter regulatory region of the *PPAR γ 2* gene in Wuzhishan minipigs. **Methods** Five pairs of primers were designed based on the promoter regulatory region of the *PPAR γ 2* gene in pigs. Then, the polymorphisms of 57 outbred Wuzhishan minipigs were detected; moreover, the promoters, transcription factor-binding sites, and secondary structures of RNA and CpG islands of the regulatory region were predicted and analyzed by various types of bioinformatic software. **Results** Nine single-nucleotide polymorphisms (SNPs) were found, which were -1595T/C, -1534G/A, -1262C/A, -1220C/A, -1017A/G, -963A/G, -955G/A, -866A/G, and -333G/A. SNPs were not located in the region of promoters that were identified by the software, but the -333G/A mutation was located in the core promoter region (-656 to -23 bp). Transcription factor-binding sites were altered near the mutational locus. The minimum free energy of secondary structures of RNA was changed and the structure of RNA was significantly altered. CpG islands were not found in the target sequence. **Conclusions** The screened SNPs of the promoter region of the *PPAR γ 2* gene in Wuzhishan minipigs may affect regulation of the expression of this gene, which lays the foundation for further study of its function.

【Keywords】 Wuzhishan minipig (WZSP); *PPAR γ 2*; promoter; single-nucleotide polymorphism (SNP); bioinformatics

【基金项目】 广东省科技计划项目 (编号: 2017B030314171, 2017A070702001); 广州市科技计划项目 (编号: 201707010376)。

【作者简介】 潘金春 (1979—), 男, 副研究员, 研究方向: 实验动物质量监督和比较医学研究。E-mail: jcpa@sina.com

【通信作者】 王希龙 (1963—), 男, 研究员, 研究方向: 小型猪实验动物标准化和比较医学研究。E-mail: hnxswxl@yahoo.com.cn

过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 基因是 1990 年 Issemann 等^[1]首先发现的能被过氧化物酶体增殖剂 (PP) 激活的物质, 因此命名为 PP 激活受体 (PPAR)。PPAR 属于核激素受体超家族, 有 3 个亚型分别为 α 、 β 、 γ , 其中 PPAR γ 是最重要的 PPAR。人的 PPAR γ 位于 3 号染色体, 而猪位于 13 号染色体上。PPAR γ 可产生 4 种 mRNA 异构体, 编码 2 种蛋白, 其中 PPAR γ 1、PPAR γ 3、PPAR γ 4 编码相同的蛋白, PPAR γ 2 编码蛋白比 PPAR γ 1 编码蛋白在 N 末端多了 28 ~ 30 个氨基酸, 而激活效率则高 5 ~ 6 倍^[2-3], 因此 PPAR γ 2 基因是现在研究的热点。PPAR γ 基因的多态性与疾病密切相关, 现已发现多种单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs), 包括 C1431T、Pro12Ala、rs1801282 等, 这些 SNPs 可能与糖尿病、肥胖、心血管等疾病相关^[4-6]。

五指山小型猪 (Wuzhishan minipigs, WZSP) 是目前国内应用最为广泛的小型猪之一, 具有体型矮小、性成熟早、适应性强、遗传稳定、代谢率低等诸多优点。有研究证明, 五指山小型猪对高糖高脂饲料敏感, 可建立 2 型糖尿病模型^[7]; 本研究前期对封闭群五指山小型猪的糖耐量和血脂进行筛查, 发现有部分小型猪糖代谢和脂代谢异常^[8]; 五指山小型猪的 PPAR γ 基因存在多态性^[9]。五指山小型猪具有独特的脂肪吸收和代谢能力, 可用于建立高血脂、糖尿病等模型。本研究对 WZSP 猪群的 PPAR γ 2 基因启动子调控区域 SNPs 进行扫描, 结合生物信息学方法对 SNPs 进行预测, 分析 SNPs 对该基因的调控作用, 为进一步研究其功能奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

普通级封闭群五指山小型猪 57 头, 雌雄不限, 体重 16.2 ~ 33.8 kg, 为 6 月龄以上的成年猪, 来源于广东省实验动物监测所和广东大华农动物保健品股份有限公司合作建立的实验用 WZSP 繁育基地 [SCXK (粤) 2013-0022]。动物饲养于普通级实验设施内 [SYXK (粤) 2018-0087]。实验过程中按实验动物使用的 3R 原则给予人道主义关怀, 动物抓取、采血等过程中尽量减少对其应激, 动物置于吊床上保定后采血。

1.2 主要试剂与仪器

血液 DNA 抽提试剂盒, Omega 公司; Premix Ex

Taq Hot Start 试剂, Takara; DL2000 DNA marker, Takara; 引物, 由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成; TBE 缓冲液、超纯水为本实验室提供。PCR 仪, Biometra 公司, 型号 TProfessional Standard Gradient; 电泳仪, 北京六一仪器厂, 型号 DYY-6C; 全自动凝胶成像系统, 美国 Bio-Rad 公司, 型号 PowerPac Basic 164-5050; 漩涡振荡器, 江苏海门麒麟医用仪器厂, 型号 QL861; 高速离心机, Sigma 公司, 型号 3k18; 干式恒温器, 杭州奥盛仪器有限公司, 型号 K20-B。

1.3 实验方法

1.3.1 基因组 DNA 抽提

从前肢皮下头静脉或后肢隐静脉采取五指山小型猪抗凝血 3 mL, 用试剂盒抽提血液基因组 DNA。

1.3.2 引物设计及 PCR

在 UCSC 基因组数据库中查找猪 PPAR γ 基因序列 (<http://genome.ucsc.edu/>, 基因位置 chr13: 75455897 - 75663489), 结合猪 PPAR γ 2 基因启动子 (GeneBank 登录号: AY044238.1) 和 mRNA (GeneBank 登录号: DQ437885.1) 序列确定猪 PPAR γ 2 基因转录起始点前后共 2200 bp 左右的调控序列, 用 Primer 5.0 软件设计 5 对引物, 以该基因 mRNA 第 1 位碱基为 +1 位, 引物信息及产物大小见表 1, 产物总长度为 2068 bp (-2011 ~ 57 bp)。PCR 反应体系为 80 μ L, 其中 DNA 模板 8 μ L, Premix Ex Taq Hot Start 试剂 40 μ L, 上下游混合引物 (浓度 10 μ mol/L) 4 μ L, 超纯水 28 μ L。采用 PCR 仪扩增, PCR 条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 55 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物 1% 琼脂糖凝胶电泳, 再用凝胶成像系统检测条带情况。

1.3.3 PCR 产物测序及序列分析

将目的条带的 PCR 产物直接送英潍捷基 (上海) 贸易有限公司测序。测序结果用 Contig Express 9.1 软件拼接, 结合 DNASTAR 7.1 软件对测序结果进行修正、比较, 再用 Variant reporter 软件分析确定 SNPs。

1.3.4 生物信息学分析

利用多种生物信息学软件对启动子、转录因子结合位点、RNA 二级结构、CpG 岛进行预测分析, 可以提高预测的准确性。各种软件方法参见表 2。

表 1 引物序列、位置及产物长度
Table 1 Primer sequences, position, and length of the PCR products

引物 Primers	引物序列(5' → 3') Primer sequences (5' → 3')	产物位置(bp) Position of the products	产物长度(bp) Length of the products
P1	F: 5'-CTCACGGCAACACCGAATC-3' R: 5'-CAGCAACTTGTGGCTTT-3'	-2011 ~ -1444	568
P2	F: 5'-CTTTTGCTGGTTCCTTGC-3' R: 5'-GGGCTTGATACAGTTAGAT-3'	-1606 ~ -1071	536
P3	F: 5'-CAATGTTCAAGGCATCAGC-3' R: 5'-ATAGACAAAGGGAGTG-3'	-1186 ~ -596	591
P4	F: 5'-TGCAAGTTGGTTTATCCGGT-3' R: 5'-TTCAGTGTCTTGAGG-3'	-856 ~ -276	581
P5	F: 5'-CCCACTCCCTTTGTCTAT-3' R: 5'-CTCCCAGAGTTTCACCCAT-3'	-613 ~ 57	670

表 2 生物信息学分析软件
Table 2 Bioinformatic analysis software

预测内容 Predicted contents	软件 Software	网址 Websites
启动子 Promoters	WWW Promoter SCAN	http://www-bimas.cit.nih.gov/molbio/proscan/
	Neural Network Promoter Prediction	http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter.html
	Promoter 2.0	http://www.cbs.dtu.dk/services/Promoter/
	Softberry	http://linux1.softberry.com/berry.phtml
转录因子结合位点 Transcription factor-binding sites	Tfsitescan	http://www.ifti.org/
	TFSEARCH	http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html
	GeneBuilder	http://zeus2.itb.cnr.it/~webgene/genebuilder.html
	AliBaba 2.1	http://www.gene-regulation.com/pub/programs.html
RNA 二级结构 Secondary structures of RNA	Genebee	http://www.genebee.msu.su/services/ma2_reduced.html
	Bio-soft	http://www.bio-soft.net/sms/cpg_island.html
	MethPrimer	http://www.urogene.org/cgi-bin/methprimer/methprimer.cgi
	Webgene	http://zeus2.itb.cnr.it/cgi-bin/wwwcpg.pl
CpG 岛 CpG islands	Softberry	http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=cpgfinder&group=programs&subgroup=promoter
	CpG Island Searcher	http://www.uscnorris.com/cpgislands2/cpg.aspx

2 结果

2.1 PCR 产物测序

PCR 产物分为 5 段条带,大小为 536 ~ 670 bp 之间,产物电泳结果见图 1。测序分析结果发现 9 个 SNPs,其在 DNA 序列上的位置参见图 2,各 SNPs 基因型频率及突变类型见表 3。

2.2 五指山小型猪 *PPARγ2* 基因启动子预测

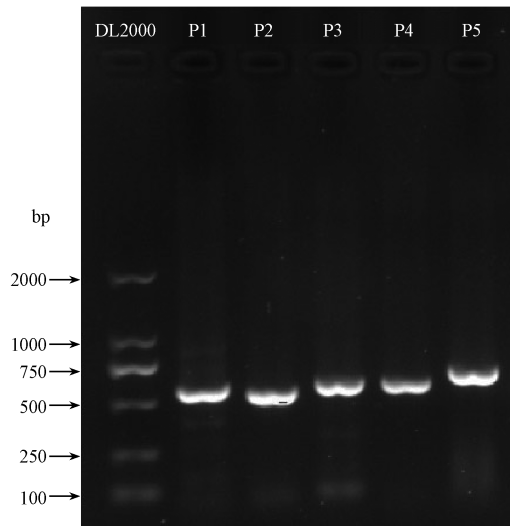
根据 4 种不同软件对启动子进行预测,上述 SNPs 都没有处在软件识别的启动子区域中,结果参见表 4。

2.3 五指山小型猪 *PPARγ2* 基因转录因子结合位点预测

利用 4 种不同软件对五指山小型猪的 *PPARγ2* 基因转录因子结合位点进行预测,可以发现该基因包含 TATA box、Pu box、NF-κB、GATA-1 等多种对 *PPARγ2* 基因转录起重要作用的结合位点。突变后的序列提交分析后可见转录因子结合位点的数量发生了改变(表 5),并且改变都发生在突变的 SNP 位点附近。

2.4 五指山小型猪 *PPARγ2* 基因 RNA 二级结构预测

将突变前后的 *PPARγ2* 基因 DNA 提交软件预测 RNA 二级结构的变化,结果表明,突变引起 RNA 二级结构最小自由能发生变化,由 -1.580 × 10⁶ J/mol 变为 -1.566 × 10⁶ J/mol。RNA 二级结构也发生明显改变,多处茎环结构发生较大变化(图 3)。



注:从左向右各孔道分别为:DL2000 marker,100 ~2000 bp;引物 P1 的 PCR 产物,568 bp;引物 P2 的 PCR 产物,536 bp;引物 P3 的 PCR 产物,591 bp;引物 P4 的 PCR 产物,581 bp;引物 P5 的 PCR 产物,670 bp。

图 1 PCR 产物凝胶电泳结果

Note. From left to right, the lanes are: DL2000 marker, 100 –2000 bp; PCR products of primers P1, 568 bp; PCR products of primers P2, 536 bp; PCR products of primers P3, 591 bp; PCR products of primers P4, 581 bp; PCR products of primers P5, 670 bp.

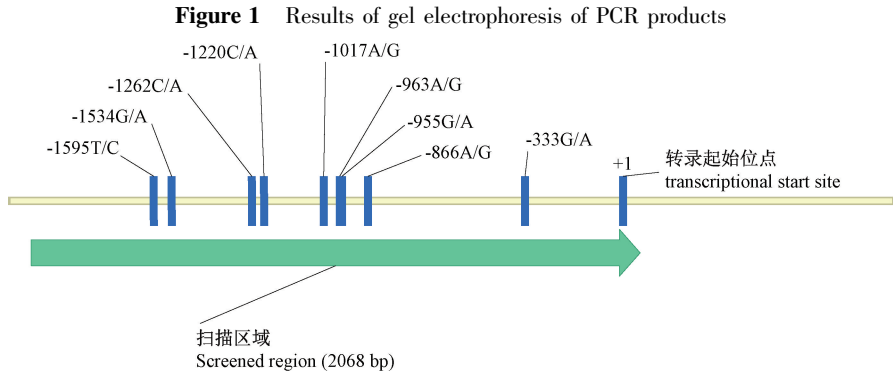


图 2 五指山小型猪 *PPARγ2* 基因 SNPs 在 DNA 序列上的位置

Figure 2 The locations of *PPARγ2* SNPs of Wuzhishan minipigs in the DNA sequence

表 3 五指山小型猪 *PPARγ2* 基因 SNPs 基因型频率

Table 3 Genotype frequencies of *PPARγ2* SNPs of Wuzhishan minipigs

SNPs	动物数量 Number of animals	基因型 Genotype			突变类型 Mutation types
		TT/AA	TC/AG/AC	CC/GG	
- 1595T/C	56	0	18(0.32)	38(0.68)	转换 Transition
- 1534G/A	57	0	15(0.26)	42(0.74)	转换 Transition
- 1262C/A	57	19(0.33)	22(0.39)	16(0.28)	颠换 Transversion
- 1220C/A	57	37(0.65)	18(0.32)	2(0.04)	颠换 Transversion
- 1017A/G	57	41(0.72)	16(0.28)	0	转换 Transition
- 963A/G	57	18(0.32)	22(0.39)	17(0.30)	转换 Transition
- 955G/A	57	35(0.61)	22(0.39)	0	转换 Transition
- 866A/G	57	16(0.28)	22(0.39)	19(0.33)	插入 Insertion
- 333G/A	57	37(0.65)	20(0.35)	0	转换 Transition

表 4 五指山小型猪 *PPARγ2* 基因启动子预测结果

Table 4 Results of *PPARγ2* promoter prediction in Wuzhishan minipigs

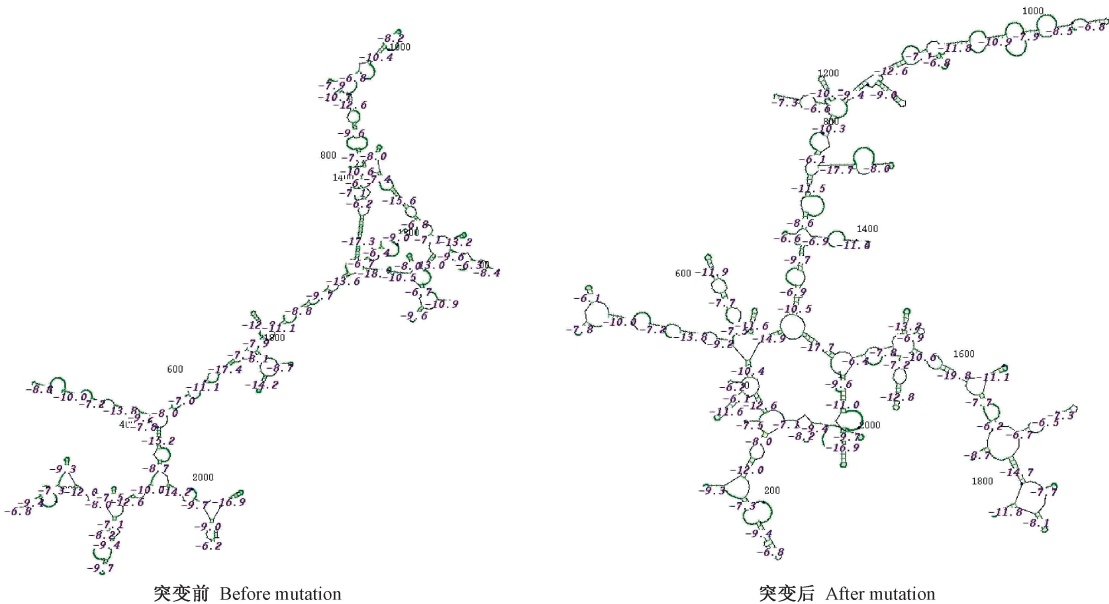
软件 Software	起始位点 Start site	结束位点 End site	评分 Score
WWW Promoter SCAN	—	—	—
Neural Network Promoter Prediction	- 1473	- 1423	0.82
Promoter 2.0	- 184	—	0.685
Softberry	—	—	—

表 5 不同软件预测五指山小型猪 *PPAR*γ2 基因转录因子结合位点数量

软件 Software	转录因子结合位点数量 Numbers of transcriptional factor-binding sites		高分结合位点数量 Numbers of binding sites with high scores	
	原序列 Referenced sequences	突变序列 Mutated sequences	原序列 Referenced sequences	突变序列 Mutated sequences
	原序列 Referenced sequences	突变序列 Mutated sequences	原序列 Referenced sequences	突变序列 Mutated sequences
Tfsitescan	534	560	27	28
TFSEARCH	497	493	30	32
GeneBuilder	723	725	4	4
AliBaba 2. 1	168	172	—	—

注: Tfsitescan 软件: 高分为 10 分; TFSEARCH 软件: 高分为 100 分, 最低分为 85 分; GeneBuilder 软件: 核心相似度 1. 0, 矩阵相似度 0. 85; AliBaba 2. 1 软件参数: 配对已知位点数 = 50, 矩阵宽度 = 10 bp, 位点最小数量 = 4, 最小矩阵保守度 = 75%, 与矩阵序列相似度 = 1%, 因子水平 = 4 (例如: RAR-b')。

Note. Software Tfsitescan; 10 is the high score. Software TFSEARCH; 100 is the high score; 85 is the threshold score. Software GeneBuilder; Core similarity is 1. 0; Matrix similarity is 0. 85. Software AliBaba 2. 1 parameters; Pairsim to known site = 50; Matrix width = 10 bp; Minimum number of sites = 4; Minimum matrix conservation = 75%; Similarity of sequence to matrix = 1%; Factor class level = 4 (e. g. : RAR-b') .



注: 红色数字为茎环结构的自由能; 黑色数字为碱基的位置 (从提交的第一个碱基计算); 绿色线条表示 RNA 碱基链。

图 3 *PPAR*γ2 基因 RNA 二级结构预测

Note. Red numbers indicate the free energy of the stem ring structures. Black numbers indicate the positions of the base (calculated from the first base submitted). Green lines indicate RNA base chains.

Figure 3 RNA secondary structure prediction of the *PPAR*γ2 gene

2.5 *PPAR*γ2 基因 CpG 岛预测

用 5 种不同的软件预测 *PPAR*γ2 基因 CpG 岛, 参数设为: Obs/Exp 值大于 0. 6, GC 含量大于 50%, 范围大于 200 bp。结果未发现 CpG 岛的存在。

3 讨论

现已发现多个与疾病相关的 *PPAR*γ 基因多态位点, Yen 等人^[10]首次报道了 *PPAR*γ2 基因的两个常见多态位点 C1431T 和 Pro12Ala 可能与糖尿病、肥胖等疾病有关。启动子区域的突变位点 -1279G/A 突变体在 Pro12Ala 突变体 Pro/Pro 基因

型存在的情况下, 可提高对 2 型糖尿病的易感性; 而在 12Ala 等位基因存在时, 则表现对 2 型糖尿病的保护作用^[11]。Chan 等人^[12]发现 rs6809631、rs9817428、rs10510411、rs12629293 和 rs12636454 这 5 个启动子区域 SNPs 与 2 型糖尿病显著相关。*PPAR*γ2 的启动子区域突变 C-2821T 可能通过调节 *PPAR*γ2 基因的表达来影响其激活^[13]。

本研究一共筛选到 9 个 SNPs, 包括 -1595T/C、-1534G/A、-1262C/A、-1220C/A、-1017A/G、-963A/G、-955G/A、-866A/G、-333G/A。用 4 个启动子预测软件预测五指山小型猪的 *PPAR*γ2 基

因在 -1473 bp 和 -184 bp 位置可能存在两个启动子,这 9 个 SNPs 都没有处于预测的启动子区域,可能作用于其他调控区域而影响基因的表达。其中 -333G/A 突变位于核心启动子(-656 ~ -23 bp)区域,可能对 *PPAR γ 2* 基因的表达发挥重要调控作用。

利用 4 种不同软件对五指山小型猪的 *PPAR γ 2* 基因转录因子结合位点进行预测,发现突变前后的转录因子结合位点数量都发生了改变,这些改变都发生在突变的 SNPs 位点附近。说明这 9 个 SNPs 都可导致 *PPAR γ 2* 基因转录因子结合位点发生改变,从而可能影响该基因的转录表达。通过软件预测该基因 RNA 二级结构发现其最小自由能发生变化,二级结构也有显著变化,可能影响 RNA 二级结构的稳定性,进一步说明突变位点可能对该基因的转录表达产生影响。通过 5 种软件均未能预测出五指山小型猪的 *PPAR γ 2* 基因有 CpG 岛的存在,说明通过改变甲基化水平调节该基因表达的可能性较小。

人的 *PPAR γ 2* 基因存在一些突变位点与本研究获得的突变位点位置接近,如 -1279G/A 突变体可能与 2 型糖尿病的易感性有关^[11],这个位点与本研究 -1262C/A 突变体位置靠近,且该突变三种基因型频率接近(0.33:0.39:0.28)。此外, -963A/G (0.32:0.39:0.30) 和 -866A/G (0.28:0.39:0.33) 突变的基因型频率也比较接近,均衡的基因型有利于筛选需要的突变体。有研究者在二花脸猪 *PPAR γ* 基因转录调控区域鉴定出两个 SNPs, -1633C>T 和 -1572G>A,并进一步证实 T-A 单体型可能与更高的肌肉脂肪含量有关^[14],这两个位点与本研究 -1595T/C 突变位置接近。另外, -333G/A 突变位于核心启动子可能对该基因的表达产生重要影响。这几个 SNPs 都可以引起转录因子结合位点的变化,有必要进一步研究其功能。

参考文献:

- [1] Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators [J]. Nature, 1990, 347(6294): 645-650.
- [2] Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors; nuclear control of metabolism [J]. Endocr Rev, 1999, 20(5): 649-688.
- [3] Werman A, Hollenberg A, Solanes G, et al. Ligand-independent activation domain in the N terminus of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ). Differential activity of PPAR γ 1

- and-2 isoforms and influence of insulin [J]. J Biol Chem, 1997, 272(32): 20230-20235.
- [4] Butt H, Shabana, Hasnain S. The C1431T polymorphism of peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) is associated with low risk of diabetes in a Pakistani cohort [J]. Diabetol Metab Syndr, 2016, 8(1): 67.
- [5] Zaki M, Hassan N, El-Bassyouni HT, et al. Association of the Pro12Ala polymorphism with the metabolic parameters in women with polycystic ovary syndrome [J]. Open Access Maced J Med Sci, 2017, 5(3): 275-280.
- [6] Szkup M, Owczarek AJ, Schneider-Matyka D, et al. Associations between the components of metabolic syndrome and the polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ), the fat mass and obesity-associated (FTO), and the melanocortin-4 receptor (MC4R) genes [J]. Aging (Albany NY), 2018, 10(1): 72-82.
- [7] 陈华, 刘亚千, 李春, 等. 三个品系小型猪 II 型糖尿病模型比较研究 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(6): 49-55, 32.
- [8] 潘金春, 闵凡贵, 袁文, 等. 五指山小型猪糖耐量试验及血脂分析 [J]. 实验动物与比较医学, 2011, 31(5): 356-359.
- [9] 赵玉琼, 姚春涛, 赵权, 等. 三个品系小型猪 PPAR- γ 基因外显子 1 的多态性分析 [J]. 实验动物与比较医学, 2009, 29(5): 289-292.
- [10] Yen CJ, Beamer BA, Negri C, et al. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor γ (hPPAR γ) gene in diabetic Caucasians; identification of a Pro12Ala PPAR γ 2 missense mutation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 241(2): 270-274.
- [11] Vimalaswaran KS, Radha V, Jayapriya MG, et al. Evidence for an association with type 2 diabetes mellitus at the PPARG locus in a South Indian population [J]. Metabolism, 2010, 59(4): 457-462.
- [12] Chan KH, Niu T, Ma Y, et al. Common genetic variants in peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPARG) and type 2 diabetes risk among Womens Health Initiative postmenopausal women [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 98(3): E600-E604.
- [13] Muller YL, Bogardus C, Beamer BA, et al. A functional variant in the peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 promoter is associated with predictors of obesity and type 2 diabetes in Pima Indians [J]. Diabetes, 2003, 52(7): 1864-1871.
- [14] Wang H, Xiong K, Sun W, et al. Two completely linked polymorphisms in the PPARG transcriptional regulatory region significantly affect gene expression and intramuscular fat deposition in the longissimus dorsi muscle of Erhualian pigs [J]. Anim Genet, 2013, 44(4): 458-462.