Tạp chí Khoa học ĐHQGHN, Khoa học Tự nhiên và Công nghệ 28 (2012) 77-86

Tương quan giữa đa hình di truyền gen Myogenin và gen mã hóa yếu tố ức chế ung thư máu (Leukemia inhibitory factor) với các đặc tính sinh lý-hóa máu lợn

Đỗ Võ Anh Khoa[1,*], Nguyễn Thị Diệu Thúy[2]

[1]*Trường Đại học Cần Thơ, Khu II, Đường 3/2, Cần Thơ, Việt Nam*

[2]*Viện Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 20 tháng 2 năm 2012

Tóm tắt. Nghiên cứu nhằm mục tiêu đánh giá đa hình di truyền gen ứng viên Myogenin (MyoG) và gen mã hóa yếu tố ức chế ung thư máu (Leukemia inhibitory factor - LIF), từ đó phân tích mối quan hệ đa hình với các tính trạng sinh lý-hóa máu ở lợn Yorkshire x Landrace. Kết quả đã nhận diện được các đột biến điểm trên gen MyoG (3'-UTR, *Msp*I, A→B) với tần số kiểu gen AA=9,10%, AB=45,45%, BB=45,45% và trên gen LIF (exon 3, *Dra*III, A→B) với tần số kiểu gen AA=15,63%, AB=71,87%, BB=12,50% bằng kỹ thuật PCR-RFLP. Sự liên kết đa hình (i) gen MyoG với các tính trạng: số lượng bạch cầu (WBC), hàm lượng hematocrit (HCT) và (ii) gen LIF với các tính trạng số lượng hồng cầu (RBC), HCT, hàm lượng tiểu cầu (PLT), hàm lượng urea (urea/BUN) được tìm thấy ($p<0,05$). Điều này gợi ý rằng MyoG và LIF có thể được xem như là các gen ứng viên tốt với các chỉ tiêu sức khỏe và sự biến dưỡng ở lợn.

Từ khóa: Đa hình di truyền, gen MyoG, gen LIF, lợn, phân tích tương quan, RFLP-PCR.

1. Mở đầu

Sự kết hợp giữa chọn giống dựa trên phương pháp di truyền học số lượng với công nghệ cao của di truyền học phân tử được xem là một phương pháp hoàn chỉnh, được các nhà khoa học quốc tế đánh giá cao trong công tác chọn giống vật nuôi hiện nay. Theo đó các tính trạng kinh tế về sức kháng bệnh, năng suất, chất lượng...thường được kiểm soát bởi nhiều gen. Công nghệ này hiện đang được áp dụng ở nhiều nước trên thế giới nhằm loại bỏ những gen qui định các tính trạng không mong muốn hoặc đưa các kiểu gen tốt vào đàn giống, giúp nâng cao chất lượng cũng như giá trị kinh tế của đàn giống. Một trong các ví dụ là chọn giống hỗ trợ bởi thông tin đột biến điểm trên gen IGF2 làm tăng 3-4% thịt nạc ở lợn [1].

Gen myogenin (MyoG) có vị trí trung tâm trong họ gen MyoD, liên quan đến sự thay đổi khối lượng cơ và tỷ lệ nạc, tốc độ tăng trưởng và độ dày mỡ lưng ở lợn [2], chuyển đổi tế bào trung bì (mesodermal cells) thành myoblast để hình thành sợi cơ (myofiber) [3]. Đa hình di truyền gen MyoG được tìm thấy tại 3 điểm trên vùng promoter, intron 2 và vùng 3′ UTR [4].

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-913541274
E-mail: dvakhoa@ctu.edu.vn

Qua phân tích cho thấy có sự liên kết giữa các kiểu gen với trọng lượng sơ sinh, tốc độ tăng trưởng và trọng lượng thịt nạc ở lợn Yorkshire [5], trọng lượng sơ sinh và độ dày mỡ lưng giữa các giống lợn Landrace, Yorkshire, Duroc, Shanxi Black và Mashen [2], tăng trọng lượng đến 4% và khối lượng thịt nạc 5,8% ở lợn Yorkshire [5]. Tuy nhiên trên lợn Móng Cái, không có sự khác biệt về tốc độ tăng trưởng giữa hai kiểu gen AA và BB tại điểm đa hình được nhận diện bởi enzyme giới hạn *Msp*I [6].

Gen LIF mã hóa cho các cytokine đa hiệu (pleiotropic cytokine), đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển cua túi phôi và số con sơ sinh ở chuột [7, 8]. LIF đồng thời cũng được xem như là một gen ứng viên tốt cho một số tính trạng tương đồng ở lợn [9]. Spötter và cộng sự [10] đã chứng minh rằng alen "B" có ảnh hưởng từ 1-3 con sơ sinh còn sống/lứa đẻ (p=0,044) [10].

Nghiên cứu này đặt ra mục tiêu (i) xác định đa hình gen MyOG và LIF, (ii) phân tích sự ảnh hưởng của đa hình gen trên một số chỉ tiêu sinh lý hóa máu ở lợn Yorkshire x Landrace.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm được thiết kế dựa trên nền tảng phương pháp và số liệu đã được công bố trước đây về (i) nguồn DNA đã được tách chiết [11]; (ii) đặc điểm sinh lý-hóa máu của 33 lợn đực thiến giống Yorkshire, trong đó các chỉ số về đặc điểm sinh lý-hóa máu được kiểm tra bao gồm: Số lượng bạch cầu (WBC), số lượng hồng cầu (RBC), hàm lượng tiểu cầu (PLT), hàm lượng hematocrit (HCT), hàm lượng glucose, hàm lượng urea/BUN [11,12].

Hai cặp mồi đặc hiệu để nhân đoạn gen MyoG và LIF có trình tự như sau:

MyoG_fw	5'-TCAGGAAGAACTGAAGGCTG-3'	(GenBank X89209, 39-58)
MyoG_re	3'-GTTTCCTGGGGTGTTGC-5'	(GenBank X89209, 375-391)
LIF_fw:	5'-ATGTGGATGTGGCCTACGG-3'	(GenBank AJ296176, 6842-6861)
LIF_re:	3'-GGGAACAAGGTGGTGATGG-5'	(GenBank AJ296176, 7231-7249)

2.2. Phương pháp

Thành phần cua phản ứng PCR, chu trình nhiệt và phương pháp PCR-RFLP gen MyoG và LIF được sử dụng như mô tả của Nguyễn Vân Anh và cộng sự [6] và Spötter và cộng sự [10].

Tần số kiểu gen và alen được tính toán dựa theo định luật cân bằng Hardy-Weinberg sử dụng phép thử Chi-bình phương.

Số liệu được phân tích bằng phần mềm MS Excel và Minitab v.14 (Gerneral Linear Model, Tukey) theo mô hình: $y_{ij}=\mu+\alpha_i+\varepsilon_{ij}$ (μ: trung bình chung, α: ảnh hưởng kiểu gen, ε: sai số).

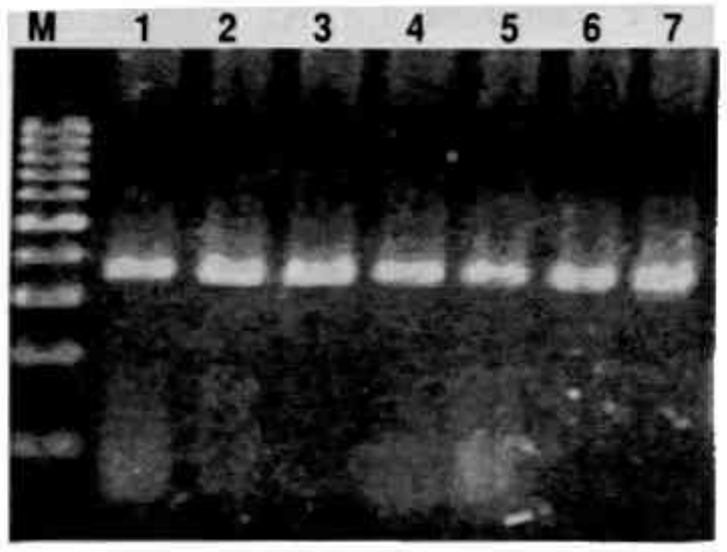
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Đặc điểm kiểu gen

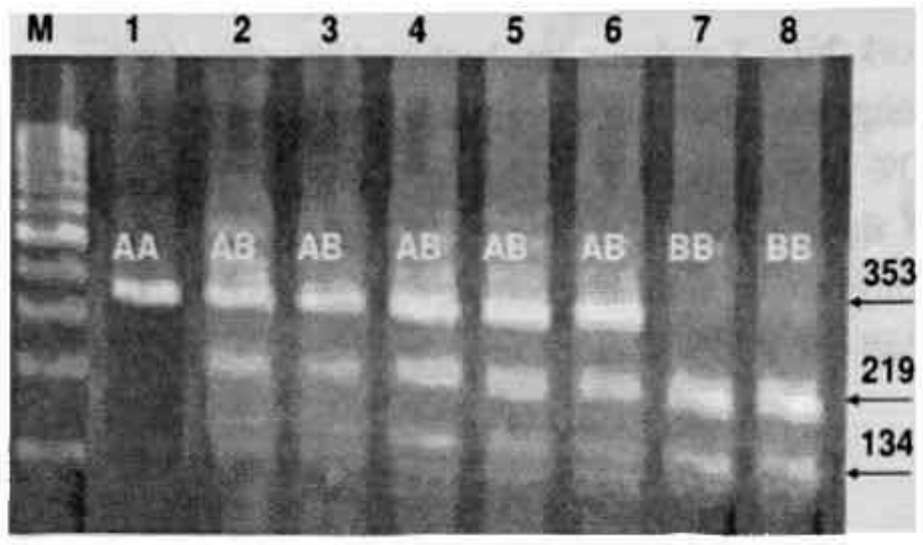
Gen MyoG

Kết quả sử dụng cặp mồi chuyên biệt dưới sự hỗ trợ của chương trình nhiệt thích hợp [6], đoạn gen 353 bp ở vùng 3'-UTR đã được khuếch đại thành công (hình 1). Để đánh giá kiểu gen MyoG trên vùng 3'-UTR của quần thể lợn thí nghiệm Yorkshire x Landrace, kỹ thuật PCR-RFLP/*Msp*I được sử dụng. Theo tính toán lý thuyết, đoạn gen MyoG có kích thước phân tử sẽ được cắt bởi *Msp*I thành các dạng alen sau: "B" (219 bp và 134 bp) và "A" (353 bp).

Kết quả là kiểu gen AA được nhận diện với một băng duy nhất (353 bp), kiểu gen BB với 2 băng có chiều dài khác nhau (219 bp và 134 bp) và kiểu gen AB được biểu hiện bằng 3 băng có độ lớn khác nhau (353 bp, 219 bp và 134 bp) (Hình 2).



Hình 1. Điện di sản phẩm PCR gen MyoG trên gel agarose 1%
M: Thang DNA chuẩn 100 bp
1-7: Sản phẩm PCR gen MyoG 353 bp.



Hình 2. Điện di đoạn gen MyoG bằng enzyme *Msp*I
M: Thang DNA chuẩn 100 bp
1-8: Sản phẩm PCR-RFLP/*Msp*I.

Bảng 1. Tần số kiểu gen và alen của MyoG và LIF (n=33)

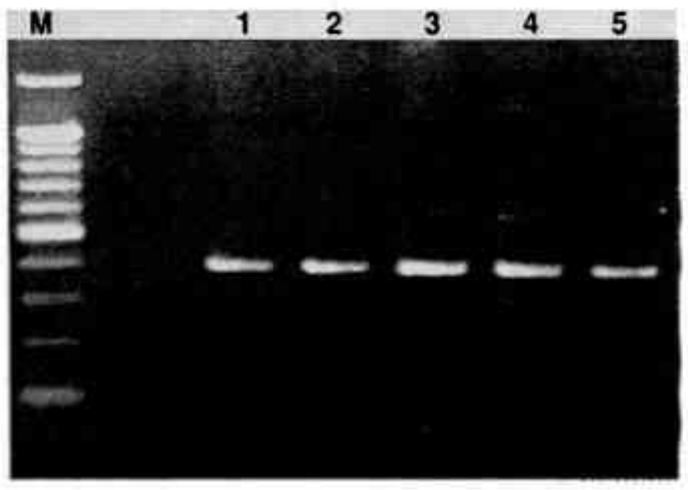
Gen	Kiểu gen	Tần số kiểu gen			Kiểu alen	Tần số alen (%)	Độ dị hợp tử
		n	%	χ^2-test			
MyoG	AA	3	9.10	ns	A	31.82	0.45
	AB	15	45.45		B	68.18	
	BB	15	45.45				
LIF	AA	5	15.15	ns	A	52	0,72
	AB	24	72.73		B	48	
	BB	4	12.12				

Kết quả phân tích tần số kiểu gen và alen trên quần thể thí nghiệm Yorkshire x Landrace (bảng 1) cho thấy kiểu gen dị hợp AB và đồng hợp BB có cùng tần số 45,45%, kiểu gen đồng hợp AA được tìm thấy với tần số thấp hơn (9,10%). Do đó tần số alen "A" được xác định là 31,82% trong khi "B" là 68,18%. So với các kết quả nghiên cứu trước đây, tần số kiểu gen được xác định ở quần thể Great Yorkshire với AA=77,5%, AB=20%, BB=2,5%, quần thể Yorkshire với AA=34%, AB=43%, BB=23%, quần thể Pietrain với AA=40%, AB=20%, BB=40%, quần thể lợn rừng AB=40%, BB=60%, quần thể Landrace Hà lan với AA=30%, AB=40%, BB=30%, quần thể Hampshire với AA=22%, AB=56%, BB=22% [4, 5], quần thể lợn đực rừng vùng Đông-Bắc Ba Lan với AA=11,8%, AB=60,5%, BB=27,6% [13], quần thể Móng Cái với AB=21,9%, BB=46,4% [6]. Đặc biệt quần thể lợn Meishan chỉ có kiểu gen AA với tần số là 100% trong khi quần thể Duroc và lợn rừng [4, 5], lợn Hampshire, lợn Yorkshire [14] và lợn Móng Cái [6] không xuất hiện kiểu gen AA. Tần số kiểu gen BB (5%) cũng được ghi nhận rất thấp so với AA (52%) và AB (42%) trong

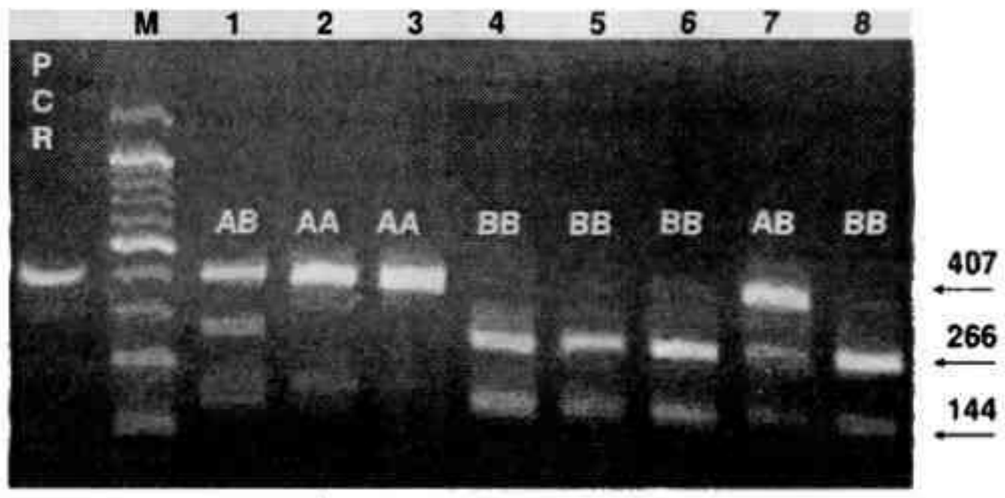
quần thể lợn Yorkshire [15]. Tần suất xuất hiện của alen "A" (31,82%) và "B" (68,18%) trong quần thể thí nghiệm cũng ở mức khác nhau so với kết quả nghiên cứu của Kim và cộng sự [16] với tần số alen "A" của lợn Meishan, Yorkshire, Landrace lần lượt là 17%, 9%, 19%, trong khi alen "B" xuất hiện với tần xuất là 80% [16]. Sở dĩ có sự khác nhau này là mức độ đa dạng nguồn gen các quần thể nghiên cứu, trong chuỗi mồi khuếch đại đoạn gen có thể chứa các SNPs khác nhau.

Gen LIF

Kết quả khuếch đại đoạn gen LIF kích thước phân tử 407 bp bằng PCR được thể hiện ở hình 3. Nhận diện SNP trên exon 3 tại vị trí 6988C→T (GenBank acc. no. AJ296176) gen LIF được thực hiện bằng kỹ thuật PCR-RFLP sử dụng enzyme cắt giới hạn *Dra*III. Theo tính toán lý thuyết, những lợn mang kiểu gen AA sẽ được thể hiện một băng duy nhất với độ lớn 407 bp, trong khi kiểu gen AB có 3 băng tương ứng với độ lớn 407 bp, 266 bp và 144 bp và kiểu gen BB có 2 băng với kích thước phân tử 266 bp và 144 bp (hình 4).



Hình 3. Điện di kiểm tra sản phẩm PCR trên gel agarose 1%
M: Chỉ thị DNA 100 bp
1-5: sản phẩm PCR



Hình 4. Cắt đoạn gen LIF bằng enzyme *Dra*III
M: Chỉ thị DNA 100 bp
PCR: Sản phẩm PCR 407 bp
1-8: Sản phẩm PCR-RFLP/*Dra*III.

Kết quả phân tích ở bảng 1 cho thấy đoạn gen LIF xuất hiện cả hai dạng alen "A" và "B" với tần số tương đương là 0,52 và 0,48 đồng thời tạo ra 3 kiểu gen là AA, AB, BB với tỷ lệ tương ứng là 15,15%, 72,73% và 12,12%. Trên quần thể lợn lai gốc Đức Duroc x Yorkshire, Spötter và cộng sự (2003) khảo sát nhận thấy tại locus LIF, tần số alen "A" chiếm 27% trong khi tần số alen "B" là 73%. Kết quả này có được dựa trên sự phân bố tần số kiểu gen AA=7%, AB=40% và BB=53% (χ^2 = 0,30; P = 0,86) trên locus [10].

3.2. Ảnh hưởng của gen MyoG và LIF đến một số tính trạng sinh lý máu

Các tính trạng về sinh lý máu và sinh hóa máu phản ánh tình trạng sức khỏe của đàn lợn thí nghiệm. Kết quả phân tích về ảnh hưởng của gen trên các chỉ tiêu sinh lý máu được ghi nhận như sau:

Số lượng bạch cầu WBC

Đối với gen MyoG, có sự khác biệt về WBC_{30} và WBC_{100} giữa các kiểu gen AA với AB hoặc BB ($p<0,05$). Lợn mang kiểu gen AA có WCB_{30} cao nhất (33,03±3,87) ở thời điểm 30 kg và thấp nhất (8,40±3,34) ở thời điểm 100 kg

so với 2 kiểu gen còn lại. Tại thời điểm 60 kg, giá trị WBC_{60} (16,40-18,17) giữa các kiểu gen là tương đương nhau. Sự tập trung WBC_{30} có tăng dần theo chiều hướng AA>AB>BB trong khi WBC_{60} và WBC_{100} thì ngược lại BB>AB>AA.

Bảng 2. Ảnh hưởng của kiểu gen MyoG và LIF lên các chỉ tiêu sinh lý máu (n=33)

Gen MyoG	AA	AB	BB	p
Thời điểm 30 kg				
WBC_{30}, 10^9/l	$33,03^{a}$±3,87	$21,53^{b}$±1,73	$23,09^{ab}$±1,73	0,037
RBC_{30}, 10^{12}/l	4,30±0,77	5,57±0,34	6,07±0,34	0,117
PLT_{30}, 10^9/l	174,70±70,66	294,60±31,60	306,40±31,60	0,245
HCT_{30}	0,41±0,03	0,39±0,01	0,40±0,01	0,771
Thời điểm 60 kg				
WBC_{60}, 10^9/l	16,40±2,71	17,78±1,21	18,17±1,21	0,837
RBC_{60}, 10^{12}/l	4,24±2,52	4,50±1,13	6,07±1,13	0,575
PLT_{60}, 10^9/l	188,70±31,23	205,90±13,96	206,00±13,96	0,871
HCT_{60}	0,39±0,03	0,36±0,01	0,37±0,01	0,676
Thời điểm 100 kg				
WBC_{100}, 10^9/l	$8,40^{a}$±3,34	$8,88^{b}$±1,49	$14,84^{ab}$±1,49	0,020
RBC_{100}, 10^{12}/l	6,94±0,98	4,53±0,44	5,14±0,44	0,092
PLT_{100}, 10^9/l	285,30±45,80	202,90±20,48	224,00±20,48	0,266
HCT_{100}	$0,41^{a}$±0,05	$0,33^{b}$±0,02	$0,41^{ab}$±0,02	0,045
Gen LIF	AA	AB	BB	p
Thời điểm 30 kg				
WBC_{30}, 10^9/l	18,39±3,23	24,20±1,51	22,90±3,61	0,280
RBC_{30}, 10^{12}/l	5,03±0,61	5,60±0,28	6,61±0,68	0,238
PLT_{30}, 10^9/l	245,00±57,18	289,00±26,66	332,80±63,93	0,595
HCT_{30}	$0,37^{a}$±0,02	$0,41^{b}$±0,01	$0,34^{ab}$±0,02	0,036
Thời điểm 60 kg				
WBC_{60}, 10^9/l	19,58±2,09	17,88±0,98	15,87±2,34	0,507
RBC_{60}, 10^{12}/l	4,90±2,01	5,21±0,94	5,91±2,25	0,942
PLT_{60}, 10^9/l	$228,20^{a}$±19,87	$186,20^{b}$±9,26	$276,50^{ab}$±22,21	0,002
HCT_{60}	0,38±0,02	0,37±0,01	0,36±0,03	0,873
Thời điểm 100 kg				
WBC_{100}, 10^9/l	6,54±2,76	12,02±1,28	13,15±3,08	0,179
RBC_{100}, 10^{12}/l	$4,47^{a}$±0,73	$5,52^{b}$±0,34	$2,93^{a}$±0,81	0,017
PLT_{100}, 10^9/l	$151,80^{a}$±31,75	$246,90^{b}$±14,80	$149,00^{ab}$±35,50	0,007
HCT_{100}	$0,26^{a}$±0,03	$0,41^{b}$±0,01	$0,27^{ab}$±0,04	0,000

Các chữ số mũ khác nhau ^{a,b,c} trên cùng một hàng khác nhau là khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$)

Trong khi đó, trên gen LIF không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa về giá trị WBC của các kiểu gen qua các thời điểm phân tích 30 kg (18,39-22,90), 60 kg (15,87-19,58) và 100 kg (6,54-13,15). Giá trị WBC_{30} và WBC_{100} tăng dần từ kiểu gen BB>AB>AA và có chiều hướng ngược lại đối với WBC_{60} AA>AB>BB (bảng 1).

Nhìn chung, giá trị WBC của các kiểu gen dị hợp đều nằm trong khoảng giữa của các kiểu gen đồng hợp AA và BB ở cả 2 gen. Giá trị này có khuynh hướng giảm dần theo tuổi. Nhiều nghiên cứu cho rằng, WBC ở lợn dao động trong khoảng 15-20x10^9/l [17],và lợn trưởng thành có WBC 10-15x10^9/l [18]. Những lợn còn nhỏ sẽ có số lượng WBC cao hơn lợn

trưởng thành [17, 18]. Ngoài ra, bạch cầu có khả năng bảo vệ cơ thể bằng cách tiết kháng độc tố của vi trùng, nuốt-phân hủy các chất lạ rồi mang đến cơ quan khác của cơ thể để thải ra ngoài, tiêu hủy xác tế bào già...Theo kết quả nghiên cứu, WBC_{30} thể hiện giá trị khá cao. Điều này có thể là do đàn lợn thí nghiệm chịu nhiều stress do chuyển chuồng và đổi thức ăn mới. Giai đoạn 60 kg, WBC của đàn lợn thí nghiệm khá ổn định do lợn đã quen dần với điều kiện môi trường nuôi mới, sức khỏe khá tốt. Như vậy, chỉ có kiểu gen MyoG có ảnh hưởng đến số lượng WBC_{30} và WBC_{100}.

Số lượng hồng cầu RBC

RBC của gia súc thay đổi tùy vào trạng thái sức khỏe, tuổi tác, phái tính, di truyền nòi giống, tình trạng dinh dưỡng, tình trạng hoạt động...

Đối với gen MyoG, RBC tăng dần theo kiểu gen BB>AB>AA tại hai thời điểm 30 kg và 60 kg. Tuy nhiên chiều hướng tăng dần này bị phá bỏ ở giai đoạn 100 kg, theo đó lợn mang kiểu gen AA (6,94±0,98) sẽ có số lượng RBC cao hơn lợn có kiểu gen BB (5,14±0,44) hoặc AB (4,53±0,44). Sự khác biệt về chỉ số RBC giữa các kiểu gen ở tất cả các thời điểm quan sát không có ý nghĩa thống kê.

Gen LIF, tại hai thời điểm đánh giá đầu tiên 30 kg (5,03-6,61) và 60 kg (5,91-4,90), RBC cũng tăng dần theo chiều hướng BB>AB>AA. Sự chênh lệch về RBC giữa các kiểu gen tại hai thời điểm này không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, đến thời điểm 100 kg, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về RBC được tìm thấy, nơi mà những lợn mang kiểu gen dị hợp AB (5,52±0,34) có hàm lượng RBC100 cao hơn hai kiểu đồng hợp AA (4,47±0,73) và BB (2,93±0,81) (p=0,017)

Nhìn chung, số lượng RBC của đàn lợn thí nghiệm nằm trong mức RBC bình thường 5,00-5,50x 10^9/l, ngoại trừ RBC_{100} của những lợn mang kiểu gen LIF BB (2,93x 10^9/l). Số lượng RBC càng nhiều thì sức sống của con vật càng tốt [19, 20]. Trong nghiên cứu này, kiểu gen LIF có ảnh hưởng đến chỉ tiêu RBC_{100}.

Số lượng tiểu cầu PLT

Chức năng chính của PLT là khởi động quá trình đông máu, thời gian sống của tiểu cầu ngắn từ 3-5 ngày bị phân hủy khi già ở lách [19]. Kết quả nghiên cứu cho thấy sự đa hình di truyền gen MyoG không có ảnh hưởng đến hàm lượng PLT trong máu, có nghĩa là lợn mang các kiểu gen khác nhau có giá trị PLT tương đương nhau tại các thời điểm khảo sát. Giống như khuynh hướng biểu hiện của RBC, PLT_{30} và PLT_{60} tăng dần từ kiểu gen BB>AB>AA trong khi PLT_{100} tăng dần theo chiều hướng AA>BB>AB. Những lợn mang kiểu gen AA có hàm lượng PLT tăng dần theo tuổi (174,7-285,3) trong khi kiểu gen AB (202,9-294,6) và BB (206,0-306,4) có hàm lượng PLT giảm dần theo tuổi.

Qua phân tích cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa về hàm lượng PLT_{60} (p=0,002) và PLT_{100} (p=0,007) giữa các đa hình gen LIF. Những cá thể mang kiểu gen dị hợp AB có PLT_{60} (186,20±9.26) thấp nhất nhưng PLT_{100} lại là cao nhất (246,9±14,8), trong khi những lợn mang kiểu gen BB thì ngược lại (PLT_{100} thấp nhất và PLT_{60} cao nhất). Tại thời điểm 30 kg, sự khác biệt về giá trị PLT_{30} giữa lợn mang kiểu gen BB (332,80±63,93), AB (289,00±26,66) và AA (245,00±57,18) không có ý nghĩa thống kê. Nhìn chung, giá trị PLT giảm dần theo tuổi đối với lợn mang kiểu gen AA và BB.

Tóm lại: giá trị PLT có sự biến động rất lớn giữa các các thể mang cùng kiểu gen. Tuy nhiên các giá trị về PLT của các kiểu gen qua các thời điểm đều nằm trong mức bình thường 100-600 x 10^9/l [20]. Kết quả phân tích cho thấy mối

tương quan có ý nghĩa giữa đa hình gen LIF với thông số PLT.

Hàm lượng hematorit HCT

Tại hai thời điểm đầu của thí nghiệm nhận thấy đa hình gen MyoG không có ảnh hưởng đến giá trị HCT. Trị số này dao động trong khoảng hẹp 0,36-0,41. Tuy nhiên, sự khác biệt có ý thống kê về HCT giữa các kiểu gen AA (0,41±0,05), AB (0,33±0,02) và BB (0,41±0,02) được nhận diện tại thời điểm 100 kg (p=0,045). Nhìn chung hàm lượng HCT ổn định, không có nhiều biến động lớn giữa các kiểu gen qua các thời điểm. Giá trị HCT_{60} là thấp nhất so với HCT_{30} và HCT_{100}. Lợn mang kiểu gen AB có hàm lượng HCT thấp nhất qua các thời điểm. Điều này có nghĩa là khối lượng hồng cầu trong tổng khối lượng máu toàn phần của kiểu gen dị hợp AB thấp hơn so với các kiểu gen đồng hợp AA và BB.

Đa hình gen gen LIF có ảnh hưởng đến hàm lượng HCT ở mức ý nghĩa thống kê (p<0,05), nơi mà kiểu gen dị hợp từ AB (0,41±0,01 và 0,41±0,01) có giá trị HCT cao hơn kiểu gen đồng hợp từ AA (0,37±0,02 và 0,26±0.03) và AB (0,34±0,02 và 0,27±0,04) tương ứng tại thời điểm đầu (30 kg) và cuối (100 kg) của thí nghiệm. Giá trị HCT ổn định ở giai đoạn 60 kg giữa các kiểu gen. Theo Clarence và cộng sự (1986) giá trị HCT bình thường từ 0,32-0,50 [21]. Điều này cũng phù hợp với kết quả về HCT ở hầu hết các thời điểm, ngoại trừ kiểu gen AA và BB có giá trị HCT_{100} thấp hơn.

Kết quả trên cho thấy, đa hình gen MyoG và LIF có mối quan hệ với tính trạng HCT trong máu ở lợn Yorkshire x Landrace.

3.3. Ảnh hưởng của gen MyoG và LIF đến một số chỉ tiêu sinh hóa máu

Hàm lượng glucose

Trong nghiên cứu này, lợn mang các kiểu gen MyoG có giá trị glucose ổn định qua các thời điểm khảo sát. Sự biến thiên của hàm lượng glucose trong khoảng hẹp từ 4,23-4,61 mmol/L tại thời điểm 60 kg. Theo xu hướng này, sự ổn định hàm lượng glucose cũng được tìm thấy giữa các kiểu gen LIF, dao động trong khoảng 3,95-4,51 mmol/L ở thời điểm 60 kg và 4,22-4,92 mmol/L ở thời điểm 100 kg. Nhìn chung, ở lợn trưởng thành, hàm lượng glucose không có sự khác biệt giữa các đa hình gen MyoG và LIF. Đỗ Võ Anh Khoa và cộng sự [12] ngụ ý rằng hàm lượng glucose ở lợn trong giai đoạn trưởng thành thường ổn định, nó có thể thay đổi dưới tác động của khẩu phần dinh dưỡng [12], thực tế, lợn trong giai đoạn 60-100 kg được nuôi với cùng một khẩu phần ăn. Kết quả này cũng phù hợp với công bố trước đây rằng hàm lượng glucose ở lợn nằm trong khoảng 3,69-6,45 mmol/L [21] và 2,9-5,9 mmol/L [22].

Bảng 3. Ảnh hưởng của kiểu gen MyoG và LIF lên các chỉ tiêu sinh hóa máu (n=33)

Gen MyoG	AA	AB	BB	p
Thời điểm 60 kg				
Glucose, mmol/L	4,23±0,43	4,23±0,19	4,61±0,19	0,412
Urea, mmol/L	6,10±0,42	5,49±0,43	6,01±0,42	0,646
BUN, mmol/L	2,81±0,44	2,52±0,20	2,77±0,20	0,646
Thời điểm 100 kg				
Glucose,mmol/L	4,33±0,35	4,63±0,16	4,25±0,16	0,236
Urea, mmol/L	4,97±1,47	5,27±0,66	6,88±0,65	0,188

BUN, mmol/L	2,28±0,67	2,42±0,30	3,16±0,30	0,188
Gen LIF	AA	AB	BB	p
Thời điểm 60 kg				
Glucose, mmol/L	4,12±0,31	4,51±0,14	3,95±0,34	0,227
Urea, mmol/L	5,74^{a}±0,66	6,19^{b}±0,31	3,93^{ab}±0,74	0,029
BUN, mmol/L	2,64^{a}±0,30	2,85^{b}±0,14	1,81^{ab}±0,34	0,029
Thời điểm 100 kg				
Glucose,mmol/L	4,22±0,27	4,34±0,13	4,92±0,30	0,202
Urea, mmol/L	4,82±1,12	6,41±0,52	4,12±1,25	0,162
BUN, mmol/L	2,22±0,51	2,95±0,24	1,90±0,58	0,162

Hàm lượng urea và BUN

Những lợn mang kiểu gen BB (6,01±0,42 và 6,88±0,65) có hàm lượng urea cao hơn AA (6,10±0,42 và 4,97±1,47) và AB (5,49±0,43 và 5,27±0,66) tương ứng ở cả hai thời điểm 60 kg và 100 kg. Tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê trong sự phân tích mối quan hệ đa hình di truyền gen MyoG với thông số urea/BUN.

Khi quan sát tại hai thời điểm khi lợn đạt khối lượng 60 kg và 100 kg nhận thấy sự đa hình gen LIF có ảnh hưởng đến hàm lượng urea/BUN trong máu. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê giữa các kiểu gen tại thời điểm 60 kg nơi mà những lợn mang kiểu gen dị hợp từ AB luôn có hàm lượng urea/BUN cao hơn các kiểu gen còn lại (p=0,029) và lợn mang kiểu gen AA có hàm lượng urea cao hơn lợn mang kiểu gen BB. Thực tế, alen "A" thể hiện khả năng vượt trội về hàm lượng urea trong máu so với alen "B". Thông thường cơ thể chỉ cần năng lượng cung cấp từ lipid và glucid là đủ, tuy nhiên khi có sự thiếu hụt nguồn cung cấp năng lượng, cơ thể cũng có thể sử dụng năng lượng protein và vì thế nồng độ urea trong máu tăng thêm [23].

4. Kết luận

Nghiên cứu này xác nhận đa hình gen MyoG và LIF ở quần thể lợn Yorkshire x Landrace. Kiểu gen MyoG có liên quan đến tính trạng WBC và HCT, gen LIF đóng vai trò rộng hơn trong việc kiểm soát các tính trạng về RBC, HCT, PLT và urea/BUN. Vì thế, đa hình gen MyoG và LIF liên kết với các tính trạng sinh lý-hóa máu gợi ý tiềm năng sử dụng các gen này trong hướng chọn lọc giống lợn có sức khỏe và tăng trọng tốt.

Lời cám ơn

Nghiên cứu này nhận được sự hỗ trợ kinh phí của Công ty Cổ phần GreenFeed Việt Nam (Nhựt Chánh, Bến Lức, Long An).

Tài liệu tham khảo

[1] A.S. Van Laere, M. Nguyen, M. Brauschweig, C. Nezer, C. Collette, L. Moreau, A.L. Archibald, C.S. Haley, N. Buys, M. Tally, G. Andersson, M. Georges, L. Andersson, A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature* 425 (2003) 832.

[2] H.L. Xue and Z.X. Zhou, Effects of the MyoG gene on the partial growth traits in pigs. *Yi Chuan Xue Bao* 33(11) (2006) 992.

[3] E.A. Mendez, C.W. Ernst and M.F. Rothschild, Rapid communication: A novel DNA polymorphism of the porcine myogenin (MYOG) gene. *J Anim Sci* 75 (1997) 1894.

[4] A.Somillion, J.H.F. Erken, J.A. Lentra, G. Rettenberger, M.F.H. Te Pas, Genetic variation in the porcine myogenin gene locus. *Mamm. Genome* 8 (1997) 564.

[5] M.F. Te Pas, A. Somillion, F. Harder, F.J. Verburg, T.J. Van den Bosch, T. Galesloot, T.H. Meuwinssen, Influence of myogenin genotypes on birth weight, growth rate, carcass weight, backfat thickness and lean weigh of pig. *J Anim Sci* 77(9) (1999) 2352.

[6] Nguyễn Vân Anh, Nguyễn Thị Diệu Thúy, Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Kim Đô, Đa hình di truyền gen Myogenin ở lợn Móng Cái, *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(3) (2005) 311.

[7] C.L. Stewart, Leukaemia inhibitory factor and the regulation of pre-implantation development of the mammalian embryo. *Mol Reprod Dev* 39 (1994) 233.

[8] P. Savatier, H. Lapillonne, L.A. van Grunsven, B.B. Rudkin, J. Samarut, Withdrawal of differentiation inhibitory activity/leukemia inhibitory factor up-regulates D-type cyclins and cyclin dependent kinase inhibitors in mouse embryonic stem cells. *Oncogene* 12 (1996) 309.

[9] R.D. Geisert, and J.V. Yelich, Regulation of conceptus development and attachment in pigs. *J Reprod Fertil Suppl* 52 (1997) 133.

[10] A.Spötter, C. Drögemüller, H. Hamann and O Distl, Evidence of a new leukemia inhibitory factor-associated genetic marker for litter size in a synthetic pig line. *J Anim Sci* 83 (2005) 2264.

[11] Đỗ Võ Anh Khoa, Nguyễn Huy Tưởng, Nguyễn Thị Diệu Thúy, Ảnh hưởng của kiểu gen H-FABP lên các tính trạng sinh lý máu, sinh hoá máu, năng suất và phẩm chất thịt lợn. *Tạp chí Khoa học và Phát triển* 9(4) (2011) 592.

[12] Đỗ Võ Anh Khoa, Nguyễn Huy Tưởng, Lương Thị Nhuận Hao, Đặc điểm sinh lý máu, sinh hóa máu, sinh trưởng và chất lượng thịt của nhóm lợn lai Yorkshire x Landrace, *Tạp chí Di truyền và Ứng dụng. Chuyên san Công nghệ Sinh học* 6 (2010) 35.

[13] J. Kuryl, M. Żurkowski, P. Urbański, and J. Wyszyńska-Koko, Distribution of the polymorphic variants of genes RYR1, LIF, GH, MYOG, MYF5, and GDF8 in wild boars from North-East of Poland. *Anim Sci Pap Rep* 22 (3) (2004) 271.

[14] C.W. Ernst, D.A. Vaske, R.G. Larson, M.F. Rothschild, Rapid communication: *Msp*I-RFLP at the swine MYOG locus. *J Anim Sci* 71 (1993) 3479.

[15] P. Humpolíček, T. Urban, V. Matoušek, Z. Tvrdoň, Effect of estrogen receptor, follicle stimulating hormone and myogenin genes on the performance of Large White sows. *Czech J Anim Sci* 52(10) (2007) 334.

[16] J.M. Kim, B.D. Choi, B. C. Kim, S. S. Park, K. C. Hong, Associations of the variation in the porcine myogenin gene with muscle fiber characteristics, lean meat production and meat quality traits. *J Anim Breeding Genet* 126 (2009) 134.

[17] Trần Thị Minh Châu. *Bài giảng chẩn đoán xét nghiệm*. Đại học Cần Thơ, 2000.

[18] Nguyễn Toàn Thắng, *Giáo trình sinh lý học vật nuôi*. Đại học Nông Lâm Thái nguyên, 2006.

[19] Nguyễn Thị Kim Đông và Hứa Văn Chung, *Bài giảng sinh lý gia súc*. Đại học Cần Thơ, 2005.

[20] Trần Cừ , *Sinh Lý học gia súc*. NXB Nông Thôn. Hà Nội, 1975.

[21] M.F. Clarence, A. Mays, E.A. Harold, A. James, C.B. Douglas, M.N. Paul, H.S. Glenn, A.H. Richard. *The Merck Veterinary Manual*, Sixth Edition, Merck and Co. Inc. Rahway, N.J. U.S.A. (1986)

[22] Một số chỉ tiêu sinh hóa máu của lợn - Pig Biochemistry. http://vmclub.net/phong-xet-nghim/chn-oan-phi-lam-sang/990-mot-so-chi-tieu-sinh-hoa-mau-cua-bo-pig-biochemistry.

[23] Đỗ Đình Hồ, *Hóa sinh lâm sàng*. NXB Y học, 2005.

Relationship between genetic polymorphisms of Myogenin and Leukemia inhibitory factor genes and blood physiochemical properties in pigs

Do Vo Anh Khoa[1], Nguyen Thi Dieu Thuy[2]

[1]*Can Tho University, CampusII, 3/2 street, Cantho, Vietnam*
[2]*Institute of Biotechnology, Vietnamese Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet, Hanoi, Vietnam*

The current study was subjected to identify possible single-nucleotide-polymorphisms (SNPs) in candidate genes Myogenin (MyoG) and Leukemia-Inhibitory-Factor (LIF) and to analyze probable genetic relationship between their SNP-based-RFLP-markers with blood physiochemical traits in Yorkshire x Landrace pigs. Genetic polymorphism of MyoG gene (3'-UTR, *Msp*I, A→B) with frequencies of AA (9.10%), AB (45.45%) and BB (45.45%) and in LIF gene LIF (exon 3, *Dra*III, A→B) with frequencies of AA (15.15%), AB (72.73%) and BB (12.12%) were observed. Association study showed that MyoG genotype was found to significantly influence with blood traits, such as number of white blood cell (WBC), hematocrit (HCT). The significant differences between LIF genotypes and physiochemical parameters of blood, such as number of red blood cell (RBC), HCT, number of platelet (PLT), amount of urea in blood (urea/BUN) were found ($p<0.05$). These data imply that MyoG and LIF genes may be considered as good candidate genes for health and metabolism in pigs.

Keywords: Association study, genetic polymorphism, MyoG gene, LIF gene, pigs, RFLP-PCR.