

ĐA HÌNH GEN *FUT1* VÀ *TAP1* Ở MỘT SỐ GIỐNG LỢN BẢN ĐỊA VIỆT NAM

Nguyễn Thị Quỳnh Châu¹, Giang Thị Thanh Nhân¹, Nguyễn Văn Ba¹,
Nguyễn Khánh Vân¹ và Phạm Doãn Lâm^{1*}

Ngày nhận bài báo: 18/9/2022 - Ngày nhận bài phản biện: 28/9/2022

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 21/10/2022

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định tần số alen và tần số kiểu gen của đa hình gen alpha (1, 2) fucosyltransferase (*FUT1*) và gen transporter associated with antigen processing (*TAP1*) ở 25 giống lợn bản địa Việt Nam và 1 giống lợn ngoại. Tổng số 1.300 mẫu mô tai được thu thập và tách chiết ADN. Phương pháp PCR-RFLP được sử dụng để phân tích đa hình gen *FUT1* và *TAP1* bằng enzym giới hạn *Hin6I* và *MboI* tương ứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy: đa hình gen *FUT1*, chỉ thu được 100% kiểu gen GG. Đối với đa hình gen *TAP1*, đã xác định được ba kiểu gen AA, AG, GG và hai alen A và G trong 26 giống. Trong đó, kiểu gen GG (có khả năng kháng mạnh vi khuẩn *E. coli* gây tiêu chảy ở lợn) xuất hiện với tần số cao ở nhiều giống lợn bản địa như CBT (82%), SDL (80%); kiểu gen AG xuất hiện với tần số cao nhất ở BBC (56%) và thấp nhất ở SDL (14%); kiểu gen AA có tần số cao nhất ở MC (60%), không xuất hiện ở bốn giống (HL, MT, CBT, DR). Alen G có tần số cao (>0,5) ở hầu hết các giống như HL (0,92), CBT (0,91), HCB (0,87), MT (0,81) ngoại trừ MC (0,20), VP (0,40), CAL (0,49). Tần số alen A chiếm thấp (<0,5) ngoại trừ MC (0,78), CAL (0,51). Kết quả giải trình tự gen *FUT1* không phát hiện đột biến G/A ở vị trí M307, đã phát hiện đột biến mới thay thế nucleotide C/T cách vị trí M307 hai nucleotide và giải trình tự gen *TAP1* đã xác định được đột biến điểm G/A ở vị trí G729. Ngoại trừ ba quần thể lợn SDL, OL, DR, tần số kiểu gen ở locus G729 gen *TAP1* của các quần thể lợn còn lại đều ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg.

Từ khóa: *Gen FUT1, gen TAP1, lợn bản địa, PCR-RFLP.*

ABSTRACT

Analysis of polymorphisms in the *FUT1* and *TAP1* genes in some Vietnamese native pig breeds

The analysis of 25 native Vietnamese pig breeds and 1 foreign pig breed were carried out to assess the allele and genotype frequencies of single nucleotide polymorphisms M307, G729 present in the alpha (1, 2) fucosyltransferase (*FUT1*) and transporter associated with antigen processing (*TAP1*) gene, respectively. A total of 1300 ear tissue samples were collected and total DNA extracted. The PCR-RFLP method was used to analyze the *FUT1* and *TAP1* gene polymorphisms using the restriction enzyme *Hin6I* and *MboI*, respectively. The results showed that: only GG genotype was obtained (100%) in the *FUT1* gene polymorphism. For the *TAP1* gene polymorphism, three genotypes AA, AG, GG and two alleles A and G were identified in 26 pig breeds. In native breeds, the frequencies of the favorable GG genotype were high such as CBT (82%), SDL (80%), and the frequency of AG genotype was the highest in BBC (56%) and lowest in SDL (14%); the frequency of AA genotype was the highest MC (60%), and not found in 4 breeds (HL, MT, CBT, DR). The G allele was a high frequency (>0.5) in most breeds such as HL (0.92), CBT (0.91), HCB (0.87), MT (0.81)...except MC (0.20), VP (0.40), CAL (0.49), meanwhile the frequency of A allele was low (<0.5) except MC (0.78), CAL (0.51). Sequencing results of *FUT1* gene were not found G/A mutation at M307, besides, a new allelic variant was identified C/T distance two nucleotide from M307. The G/A mutation at G729 *TAP1* gene was detected in the sequencing results. Except for the SDL, OL, DR breeds, the frequencies of *TAP1* genotypes of the rest breeds were found to be in Hardy-Weinberg equilibrium at the G729 locus.

Keywords: *FUT1, TAP1, Vietnamese native pig breed, PCR-RFLP.*

¹ Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ tế bào động vật - Viện Chăn nuôi

*Tác giả liên hệ: TS. Phạm Doãn Lâm, Phó Viện trưởng Viện Chăn nuôi. Điện thoại: 0914366975; Email: pdlanvn@yahoo.com

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh tiêu chảy gây ra bởi vi khuẩn *Escherichia coli* (*E. Coli*) có ảnh hưởng không nhỏ tới khả năng sinh trưởng ở lợn đặc biệt trong giai đoạn lợn con theo mẹ và sau cai sữa (Nguyễn Anh Tuấn và Nguyễn Bá Tiếp, 2013). Hệ quả dẫn đến lợn con bị tiêu chảy và khả năng tử vong cao (Lý Thị Liên Khai và ctv, 2015). Song song với các biện pháp kiểm dịch truyền thống, việc sử dụng các chỉ thị di truyền phân tử được xem là chìa khóa hữu hiệu để phát hiện trực tiếp các gen liên quan tới khả năng kháng bệnh tiêu chảy ở lợn. Gen *FUT1* nằm trên NST6 là một trong những gen tham gia vào quá trình điều khiển sự biến hiện của thụ thể cho độc tố của vi khuẩn, có liên quan chặt chẽ đến sự chống bám dính của vi khuẩn *E. coli* vào ruột non lợn (Meijerink và ctv, 1997; Bao và ctv, 2008). Giải trình tự vùng khung đọc mở gen *FUT1*, phát hiện đột biến điểm G/A tại vị trí 307 (M307). Những cá thể mang đột biến điểm M307 có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh tiêu chảy. Đa hình M307 gen *FUT1* cho thấy những cá thể có kiểu gen AA có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli*, còn những cá thể mang kiểu gen AG, GG thì miễn cảm với vi khuẩn *E. coli* gây bệnh (Bao và ctv, 2011a,b; Bao và ctv, 2012a,b). Gần đây, gen *TAP1* nằm trên NST7 được xác định có vai trò quan trọng trong các phản ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh tiêu chảy liên quan đến vi khuẩn *E. coli* ở lợn (Zhang và ctv, 2015). Đột biến điểm G/A ở vị trí 729 (G729) được phát hiện trong exon 3 gen *TAP1*. Đa hình G729 gen *TAP1* cho thấy những cá thể có kiểu gen GG có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* mạnh hơn lợn có kiểu gen AG và AA (Zhao và ctv, 2014; Zhang và ctv, 2015). Như vậy, điểm đa hình M307 (G/A) gen *FUT1* và G729 (G/A) gen *TAP1* là những đa hình quan trọng liên quan tới khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh tiêu chảy ở lợn.

Nghiên cứu này được thực hiện để phân tích đa hình di truyền tại vị trí M307 gen *FUT1* và G729 gen *TAP1* trên 25 giống lợn bản địa Việt Nam nhằm phát hiện các cá thể mang alen, kiểu gen có khả năng kháng bệnh tiêu

chảy gây ra bởi vi khuẩn *E. coli*, từ đó cung cấp cơ sở khoa học hỗ trợ trong công tác chọn tạo giống lợn có khả năng kháng bệnh tiêu chảy gây ra bởi *E. coli*.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Nghiên cứu thực hiện trên 26 giống lợn, trong đó, 25 giống lợn bản địa được thu thập từ các vùng địa lý khác nhau trên lãnh thổ Việt Nam và 1 giống lợn ngoại (Duroc) được thu thập tại Công ty TNHH lợn giống hạt nhân Da-baco (Bắc Ninh). Tổng số 1.300 mẫu mô tai được bảo quản ở nhiệt độ -20°C tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào động vật, Viện Chăn nuôi để tiến hành tách chiết ADN tổng số.

Bảng 1. Giống lợn, địa điểm và số lượng mẫu

TT	Giống lợn	Địa điểm	Viết tắt	Số mẫu
1	Hung	Hà Giang	HHG	50
2	Lũng Pù	Hà Giang	LP	50
3	Táp Ná	Cao Bằng	TN	50
4	Hương	Cao Bằng	HCB	50
5	Hạ Lang	Cao Bằng	HL	50
6	Mường Khương	Lào Cai	MK	50
7	Bản	Yên Bái	BYB	50
8	Bản	Bắc Cạn	BBC	50
9	Bản	Lai Châu	BLC	50
10	Mường Tè	Lai Châu	MT	50
11	Bản	Sơn La	BSL	50
12	Mán	Hòa Bình	MHB	50
13	Lũng	Phú Thọ	LPT	50
14	Móng Cái	Quảng Ninh	MC	50
15	Cò	Thanh Hóa	CTH	50
16	Xao Va	Nghệ An	XV	50
17	Mẹo	Nghệ An	MNA	50
18	Vân Pa	Quảng Trị	VP	50
19	Cò	Quảng Nam	CQN	50
20	Cò	A Lưới	CAL	50
21	Kiêng Sắt	Quảng Ngãi	KS	50
22	Cò	Bình Thuận	CBT	50
23	Chư Prông	Gia Lai	CHP	50
24	Sóc	Đắk Lắk	SDL	50
25	Ô Lâm	An Giang	OL	50
26	Duroc	CT DaBaCo	DR	50
	Tổng			1.300

Một số trình tự gen *FUT1* công bố trên ngân hàng gen thế giới (Genbank) được sử dụng để phân tích mức độ tương đồng với

trình tự gen *FUT1* của các giống lợn bản địa Việt Nam, gồm các mã số: L50534.1, AK343389.1, NM_214068.2, U70883.2, AF136896.1, CU929759.7.

2.2. Phương pháp

ADN tổng số được tách chiết từ mẫu mô bằng bộ kit Dnease Blood & Tissue Kit của hãng Quiagen, được bảo quản ở nhiệt độ -20°C . Sau khi tách chiết, ADN tổng số được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1%.

Gen *FUT1* (421bp) được khuếch đại bằng phản ứng PCR với các cặp môi theo công bố của Meijerink và ctv (1997): mỗi xuôi 5'-CTTCAGCCAGGGCTCCTTTAAG-3', mỗi ngược 5'-CTGCCTGAACGTCTATCAAGACC-3'. Gen *TAP1* (767bp) được khuếch đại bằng phản ứng PCR với các cặp môi theo công bố của Zhao và ctv (2014): mỗi xuôi 5'-GAAATGTGGATAAGAGCA-3', mỗi ngược 5'-AAACAGACGATAATGAAAGAGG-3'. Phản ứng PCR được thực hiện với tổng thể tích 25 μl gồm 2,5 μl đệm PCR 10X; 2,5 μl dNTPs 2mM; 2,5 μl MgCl₂; 1 μl mỗi xuôi và 1 μl mỗi ngược 10pM; 0,3 μl Taq polymerase (1u/ μl), 1 μl ADN 50-100ng. Chu trình nhiệt nhân đoạn gen *FUT1*: $94^{\circ}\text{C}/3$ phút, tiếp theo 35 chu kỳ ở $94^{\circ}\text{C}/45$ giây, $58^{\circ}\text{C}/30$ giây, $72^{\circ}\text{C}/45$ giây và $72^{\circ}\text{C}/5$ phút. Chu trình nhiệt nhân đoạn gen *TAP1*: $95^{\circ}\text{C}/5$ phút, tiếp theo 30 chu kỳ ở $95^{\circ}\text{C}/30$ giây, $52^{\circ}\text{C}/40$ giây, $72^{\circ}\text{C}/45$ giây và $72^{\circ}\text{C}/10$ phút.

Đa hình của gen *FUT1* và *TAP1* được xác định bằng kỹ thuật PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism). Sản phẩm PCR nhân đoạn gen *FUT1* và *TAP1* được ủ với 5U enzym cắt đặc hiệu tương ứng *Hin6I* và *MboI* trong thời gian 8-10 tiếng ở 37°C . Kết quả cắt được xác định bằng phương pháp điện di trên gel agarose nồng độ 1,5%, ảnh chụp bằng hệ thống GelDoc dưới ánh sáng tia tử ngoại UV, sử dụng marker ADN chuẩn. Đối với gen *FUT1* có ba kiểu gen: AA (328/93bp), GG (241/93/87bp) và AG (328/241/93/87bp). Đối với gen *TAP1* có ba kiểu gen: AA (767bp), GG

(628/13 bp) và AG (767/628/139bp).

Để khẳng định điểm đột biến M307, G729 tương ứng với gen *FUT1* và *TAP1*, các sản phẩm PCR được tinh sạch theo quy trình kit tinh sạch của hãng Invitrogen. Quy trình được lập cho giải trình tự tự động theo module BigDye® Terminator™ sử dụng để làm sạch sau giải trình tự bằng kit Polymer: POP7 và Capillary 3130&3100-Avent Capillary Array (36cm) trên hệ thống máy giải trình tự ABI.

2.3. Xử lý số liệu

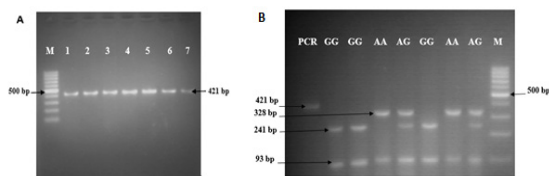
Tần số các alen và kiểu gen được tính toán bằng phần mềm thống kê sinh học và cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) được kiểm định bằng phương pháp Chi-square test (χ^2). Tần số alen được tính theo công thức: $p=(2AA+AB)/2N$ và $q=(2BB+AB)/2N$, trong đó p là tần số alen A; q là tần số alen B; N là tổng số mẫu nghiên cứu. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm BioEdit version 7.2.5 để xác định điểm đột biến.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa hình gen *FUT1* và *TAP1*

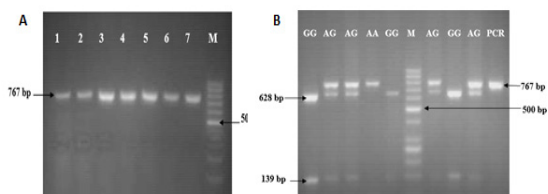
Nồng độ ADN tổng số sau tách chiết được đo trên máy Quibit 3.0 thu được 95 ± 110 ng/ μl , cho thấy ADN tách chiết đạt yêu cầu cho phản ứng PCR. Tiến hành khuếch đại đoạn gen *FUT1* và *TAP1* với các cặp môi đặc hiệu. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%, kết quả hình ảnh là một băng ADN sáng rõ, không có băng phụ, có kích thước tương ứng 421bp gen *FUT1* và 767bp gen *TAP1*, như vậy đoạn gen *FUT1* và *TAP1* đã được nhân lên thành công (Hình 1A, 2A).

Theo lý thuyết đoạn gen *FUT1* có chứa hai điểm cắt của enzym *Hin6I*, vì vậy cho hai alen A (328/93bp) và alen G (241/93/87bp) và có thể tạo thành ba kiểu gen khác nhau, tương ứng với các kích thước: AA (328/93bp), GG (241/93/87bp) và AG (328/241/93/87bp) (Hình 1B). Đoạn gen *TAP1* theo lý thuyết có chứa một điểm cắt của enzym *MboI*, tạo ra 2 alen A (767bp) và G (628/139bp), tương ứng với 3 kiểu gen: AA (1 băng 767bp), GG (2 băng 628/13bp) và AG (3 băng 767/628/139bp) (Hình 2B).



Hình 1. Phổ điện di đa hình PCR-RFLP gen *FUT1* (M307)

A: M: Marker 100bp; 1-7: Sản phẩm PCR gen *FUT1*; B: M: Marker 100bp; Sản phẩm cắt của *Hin6I* với gen *FUT1*



Hình 2. Phổ điện di đa hình PCR-RFLP gen *TAP1* (G729)

A: M: Marker 100bp; 1-7: Sản phẩm PCR gen *TAP1*; B: M: Marker 100bp; Sản phẩm cắt của *MboI* với gen *TAP1*

3.2. Tần số kiểu gen, alen của đa hình gen *FUT1*

Sự phân bố tần số kiểu gen và tần số alen của đa hình M307 gen *FUT1* ở 26 giống lợn được trình bày ở bảng 2 cho thấy, kiểu gen GG xuất hiện với tần số 100% ở 11 giống gồm HHG, LP, TN, MK, BBC, BLC, MC, XV, MNA, CAL và CBT.

Bảng 2. Tần số phân bố kiểu gen/alen của đa hình M307 gen *FUT1* ở 26 quần thể lợn (n=50/giống)

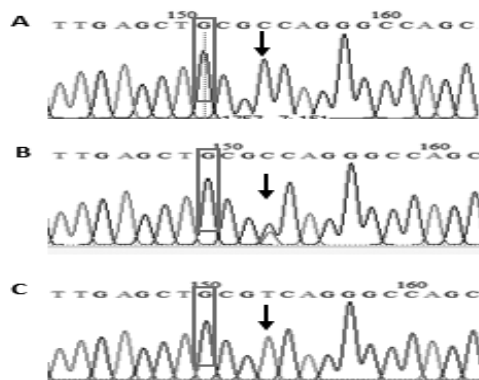
Giống lợn	Đa hình gen <i>FUT1</i> - <i>Hin6I</i>					$\chi^2(1, 0,05) = 3,841$
	Tần số kiểu gen (%)			Tần số alen		
	AA	AG	GG	A	G	
HHG	0	0	100	0	1	N
LP	0	0	100	0	1	N
TN	0	0	100	0	1	N
MK	0	0	100	0	1	N
BBC	0	0	100	0	1	N
BLC	0	0	100	0	1	N
MC	0	0	100	0	1	N
XV	0	0	100	0	1	N
MNA	0	0	100	0	1	N
CAL	0	0	100	0	1	N
CBT	0	0	100	0	1	N
HCB	0	20 ^b	80	0,10 ^c	0,90 ^d	0,1574

HL	0	12 ^b	88	0,06 ^c	0,94 ^d	0,2037
BYB	4 ^a	8 ^b	88	0,08 ^c	0,92 ^d	10,4206
MT	0	4 ^b	96	0,02 ^c	0,98 ^d	0,0208
BSL	0	2 ^b	98	0,01 ^c	0,99 ^d	0,0051
MHB	0	4 ^b	96	0,02 ^c	0,98 ^d	0,0208
LPT	0	12 ^b	88	0,06 ^c	0,94 ^d	0,2037
CTH	0	4 ^b	96	0,02 ^c	0,98 ^d	0,0208
VP	0	6 ^b	94	0,03 ^c	0,97 ^d	0,0478
CQN	0	2 ^b	98	0,01 ^c	0,99 ^d	0,0051
KS	0	4 ^b	96	0,02 ^c	0,98 ^d	0,0208
CHP	0	4 ^b	96	0,02 ^c	0,98 ^d	0,0208
SDL	0	14 ^b	86	0,07 ^c	0,93 ^d	0,2833
OL	6 ^a	58 ^b	36	0,35 ^c	0,65 ^d	3,7737
DR	0	22 ^b	78	0,11 ^c	0,89 ^d	0,7638

Ghi chú: N: không xác định giá trị χ^2 . $\chi^2(1, 0,05)=3,841$; Giá trị χ^2 bảng (df=1, P=0,05);

a: kiểu gen TT, b: kiểu gen CT, c: alen T, d: alen C (kết quả sau giải trình tự phát hiện đột biến mới)

Giải trình tự xác định đột biến điểm M307 (G/A) gen *FUT1*: Từ kết quả phân tích PCR-RFLP, đã xác định 2 giống BYB, OL có 3 kiểu gen AA, AG, GG và 13 giống có 2 kiểu gen AG và GG (HCB, HL, MT, BSL, MHB, LPT, CTH, VP, CQN, KS, CHP, SDL, DR). Chúng tôi tiến hành giải trình tự đoạn gen *FUT1* của tất cả cá thể mang kiểu gen AA, AG và một số cá thể mang kiểu gen GG của 15 giống này để xác nhận đột biến thay thế G/A tại vị trí M307 của gen *FUT1*. Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm Bioedit version 7.2.5 (Hình 3).



Hình 3. Kết quả giải trình tự đoạn gen *FUT1* chứa SNP M307

Phân dòng khung là vị trí SNP M307 chỉ là kiểu gen GG
Phân mũi tên là vị trí đột biến mới C/T (A: kiểu gen CC; B: kiểu gen CT; C: Kiểu gen TT)

Hình 3A đã xác định được nucleotide G ở vị trí M307 của cá thể mang kiểu gen GG. Tuy nhiên, kết quả giải trình tự các cá thể có kiểu gen AA, AG (Hình 3B, 3C) lại không phát hiện đột biến thay thế G/A (GCGC>ACGC) ở vị trí M307, thay vào đó đột biến thay thế C/T (GCGC>GCGT) được phát hiện cách vị trí M307 hai nucleotide. Đột biến mới này cũng làm thay đổi vị trí nhận biết của enzym *Hin6I* tại điểm M307 tạo thành kiểu gen TT (2 băng 328/93bp) và CT (4 băng 328/241/93/87bb) có các kích thước băng ADN tương tự kiểu gen AA và AG (theo công bố Meijerink và ctv, 1997). Do vậy, kết quả phân tích PCR-RFLP qua hình ảnh điện di trên gel agarose sẽ không phân biệt được các sản phẩm cắt của enzym *Hin6I* (các kích thước băng ADN thu được) là do đột biến G/A hay C/T. Như vậy, qua kết quả giải trình tự chúng tôi xác nhận lại là tại vị trí đa hình M307 của 15 giống HCB, HL, BYB, MT, BSL, MHB, LPT, CTH, VP, CQN, KS, CHP, SDL, OL, DR chỉ có một kiểu gen GG (100%), không có kiểu gen AA và AG. Đột biến mới C/T được xác định ở 15 giống gồm 14 giống bản địa và 1 giống ngoại, thu được 3 kiểu gen TT, CT, CC và 2 alen C, alen T. Kiểu gen TT chỉ xuất hiện ở giống BYB, OL với tần số tương ứng 4% và 6%; Kiểu gen CT được xác định ở 15 giống gồm HCB (20%), HL (12%), BYB (8%), MT (4%), BSL (2%), MHB (4%), LPT (12%), CTH (4%), VP (6%), CQN (2%), KS (4%), CHP (4%), SDL (14%), OL (58%) và DR (22%). Alen T xuất hiện với tần số từ 0,01-0,35, cao nhất ở OL (0,35); trong khi alen C chiếm tần số từ 0,65-0,99, cao nhất ở BSL (0,99), CQN (0,99). Đột biến C/T cũng được phát hiện ở trình tự CU929759.7 bởi Panagiotidis công bố trên ngân hàng gen. Đột biến C/T cũng dẫn đến thay thế axit amin Proline (CCA)>Serine (UCA), tuy nhiên đột biến này khả năng kháng vi khuẩn *E. Coli* hay không thì vẫn chưa được xác định.

Trong nghiên cứu này, chỉ thu được một kiểu gen mẫn cảm GG ở 25 giống lợn bản địa, kết quả có xu hướng tương tự với công bố của Bao và ctv (2008, 2011); Cuong và ctv (2012) là hầu hết các giống lợn bản địa Việt Nam,

Trung Quốc chỉ có kiểu gen mẫn cảm GG, AG. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, kiểu gen AA xuất hiện ở một số giống lợn bản địa Châu Âu với tần số cao như giống Zlotnicka Spotted (37,5%) (Klukowska và ctv, 1999) và xuất hiện với tần số thấp ở một số giống như Duroc (13,6%), Pietrain (16,7%), Large White (5,2%), Yorkshire (0,98%) và Landrace (7%) (Bao và ctv, 2008; Cuong và ctv, 2012; Zhang và ctv, 2015; Do Duc Luc và ctv, 2020). Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, kiểu gen AA lại không xuất hiện ở giống Duroc (DR). Kết quả trong nghiên cứu này trên các giống lợn bản địa Việt Nam 100% kiểu gen GG là hệ quả của quá trình chọn lọc để thích nghi với chế độ ăn nghèo dinh dưỡng, thích hợp sinh thái địa phương, không có nhiều áp lực chọn lọc về năng suất (có tốc độ sinh trưởng thấp). Trong khi các giống lợn ngoại chịu ảnh hưởng của việc chọn lọc cường độ cao về năng suất, chất lượng thịt trong thời gian dài nên đã cải thiện được di truyền về khả năng kháng *E. coli*.

3.3. Tần số kiểu gen, tần số alen của đa hình gen *TAP1*

Sự phân bố tần số kiểu gen và tần số alen của gen *TAP1* trong 26 giống lợn được trình bày ở bảng 3. Kết quả ở bảng 3 cho thấy, đa hình G729 gen *TAP1* thu được 3 kiểu gen AA, AG, GG và hai alen A, alen G.

Giải trình tự xác định đột biến điểm G729 (G/A) gen *TAP1*: Từ kết quả phân tích đa hình PCR-RFLP gen *TAP1*, chúng tôi tiến hành giải trình tự một số cá thể mang kiểu gen GG, AG, AA để xác nhận đột biến điểm G/A tại vị trí G729. Các trình tự sau khi được xử lý và phân tích bằng phần mềm Bioedit để thu được trình tự đoạn gen *TAP1* cần phân tích, kết quả đã xác định điểm đa hình tại vị trí G729 với sự thay thế nucleotide G/A (GATC>AATC), hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích PCR-RFLP (Hình 4).

Kết quả bảng 3 cho thấy, kiểu gen đồng hợp tử GG (có khả năng kháng mạnh *E. coli*) và kiểu gen dị hợp tử AG xuất hiện ở cả 26 giống, trong đó kiểu gen GG xuất hiện với tần số cao ở nhiều giống như CBT (82%), SDL

DI TRUYỀN - GIỐNG VẬT NUÔI

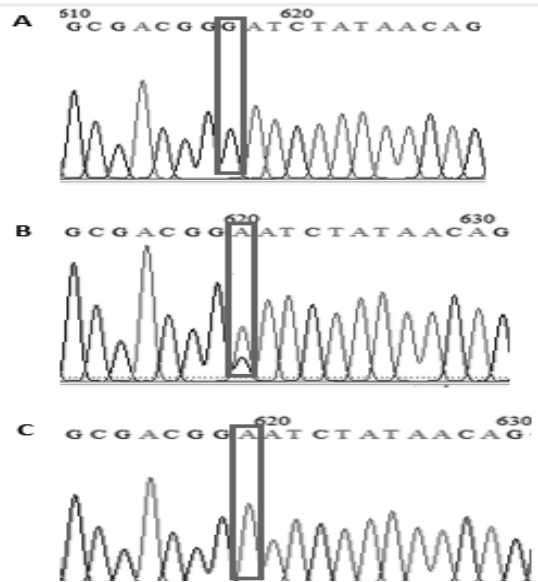
(80%), HCB (76%), HL (74%), BSL (68%) ngoại trừ giống MC (4%). Kiểu gen AG xuất hiện với tần số từ 14-56%, cao nhất ở BBC (56%) và thấp nhất ở SDL (14%). Kiểu gen AA không xuất hiện ở 4 giống HL, MT, CBT, DR, có tần số khá thấp ở giống HCB (2%), LPT (4%), BLC (6%), tần số cao nhất ở MC (60%). Alen G có tần số cao (>0,5) ở hầu hết các giống như HL (0,92), CBT (0,91), HCB (0,87), MT (0,81) ngoại trừ MC (0,2), VP (0,40), CAL (0,49). Tần số alen A thấp (<0,5) ở hầu hết các giống ngoại trừ MC (0,78), CAL (0,51). Tần số kiểu gen/alên tại locus G729 gen *TAP1* trong các quần thể nghiên cứu đều tuân theo định luật HWE ngoại trừ 3 quần thể SDL, OL, DR. Kết quả này của chúng tôi tương tự với Zhao và ctv (2014); Zhang và ctv (2015) cho thấy kiểu gen GG có tần số khá cao ở giống lợn LW (69,5%) và Pudong White (70,8%). Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, kiểu gen GG xuất hiện với tần số cao ở nhiều giống, đây được xem là lợi thế về tiềm năng di truyền của các giống lợn bản địa Việt Nam, đồng thời đây cũng là cơ sở khoa học cho việc chọn lọc giống lợn mang kiểu gen kháng bệnh tiêu chảy gây ra bởi vi khuẩn *E. coli*.

Bảng 3. Tần số phân bố kiểu gen/alên của đa hình G729 gen *TAP1* ở 26 quần thể lợn (n=50/giống)

Giống lợn	Đa hình gen <i>TAP1-MboI</i>					
	Tần số kiểu gen (%)			Tần số alên		$\chi^2(1, 0,05) = 3,841$
	AA	AG	GG	A	G	
HHG	12	42	46	0,33	0,67	0,1793
LP	24	36	40	0,42	0,58	3,4082
TN	18	48	34	0,47	0,63	0,0109
HCB	2	22	76	0,13	0,87	0,0376
HL	0	26	74	0,18	0,92	1,1164
MK	8	42	50	0,34	0,76	0,0198
BYB	10	40	50	0,30	0,70	0,2416
BBC	22	56	22	0,50	0,50	0,7200
BLC	6	46	48	0,29	0,71	0,6850
MT	0	38	62	0,19	0,81	2,7511
BSL	8	24	68	0,20	0,80	3,1250
MHB	20	52	28	0,46	0,54	0,1090
LPT	4	32	64	0,20	0,80	0,0000
MC	60	36	4	0,78	0,20	0,1198
CTH	14	38	48	0,33	0,67	0,9893
XV	8	38	54	0,23	0,73	0,0649
MNA	20	42	38	0,41	0,59	0,8695

VP	42	36	22	0,60	0,40	3,1250
CQN	16	44	40	0,38	0,62	0,2192
CAL	30	42	28	0,51	0,49	1,2746
KS	24	44	32	0,46	0,54	0,6536
CBT	0	18	82	0,09	0,91	0,4891
CHP	10	42	48	0,31	0,69	0,0166
SDL	6	14	80	0,13	0,87	7,2610
OL	12	26	62	0,25	0,75	4,7022
DR	0	44	56	0,22	0,78	3,9776

Ghi chú: Giá trị χ^2 bảng (df=1, P=0,05)



Hình 4. Kết quả giải trình tự đoạn gen *TAP1* chứa SNP G729 (G/A)

A: kiểu gen GG; B: kiểu gen AG; C: Kiểu gen AA. Phân đồng khung là vị trí đa hình

4. KẾT LUẬN

Đa hình M307 gen *FUT1*, xác định 100% cá thể có kiểu gen GG ở cả 26 giống. Kết quả giải trình tự đoạn gen *FUT1*, phát hiện đột biến mới C/T cách vị trí M307 hai nucleotide làm thay đổi axit amin Pro thành Ser, xuất hiện ở 14 giống bản địa và 1 giống ngoại. Đa hình G729 gen *TAP1*, đã xác định được kiểu gen GG (có khả năng kháng vi khuẩn *E. coli*) ở cả 25 giống bản địa. Kết quả này cho thấy nhiều giống lợn bản địa Việt Nam có tiềm năng di truyền về khả năng kháng vi khuẩn *E. coli* gây bệnh tiêu chảy. Những kết quả này là các luận cứ khoa học cho việc phát triển các nghiên cứu

tiếp theo và hỗ trợ các chương trình chọn lọc giống lợn có khả năng kháng bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bao W.B., Wu S.L., Musa H.H., Zhu G.Q. and Chen G.H. (2008). Genetic variation at the alpha-1-fucosyltransferase (*FUT1*) gene in Asian wild boar and Chinese and Western commercial pig breeds. *J. Anim. Bre. Gen.*, **125**(6): 427-30.
- Bao W.B., Ye L., Zhu J., Pan Z.Y., Zhu G.Q., Huang X.G. and Wu S.L. (2011a). Polymorphism of M307 of the *FUT1* Gene and Its Relationship with Some Immune Indexes in Sutaig Pigs (Duroc× Meishan). *Bioch. Gen.*, **49**(9): 665-73.
- Bao W.B., Ye L., Pan Z.Y., Zhu J., Zhu G.Q., Huang X.G. and Wu S.L. (2011b). Beneficial genotype of swine *FUT1* gene governing resistance to *E. coli* F18 is associated with important economic traits. *J. Gen.*, **90**(2): 315.
- Bao W.B., Ye L., Pan Z.Y., Zhu J., Du Z.D., Zhu G.Q. and Wu S.L. (2012a). The effect of mutation at M307 in *FUT1* gene on susceptibility of *Escherichia coli* F18 and gene expression in Sutaig piglets. *Mol. Biol. Reports*, **39**(3): 3131-36.
- Bao W.B., Ye L., Zhu J., Pan Z.Y., Zhu G.Q., Huang X.G. and Wu S.L. (2012b). Evaluation of M307 of *FUT1* gene as a genetic marker for disease resistance breeding of Sutaig pigs. *Mol. Biol. Reports*, **39**(4): 4223-28.
- Cuong N.V., Thu N.T., Thoa T.T., Hoan T.X., Thuy N.T. and Thuy N.T. (2012). Polymorphisms of candidate genes associated with meat quality and disease resistance in indigenous and exotic pig breeds of Vietnam. *Sou. Afr. J. Anim. Sci.*, **42**(3): 221-31.
- Klukowska B.J., Urbaniak B. and Świtoński M. (1999). High frequency of M307a mutation at *FUT1* locus, causing resistance to oedema disease, in an autochthonous polish pig breed, the zlotnicka spotted. *J. Anim. Bre. Gen.*, **116**(6): 519-24.
- Luc D.D., Thinh N.H., Bo H.X., Vinh N.T., Manh T.X., Hung N.V., Ton V.D. and Frédéric F. (2020). High frequency of M307a mutation at *FUT1* locus, causing resistance to oedema disease, in an autochthonous polish pig breed, the zlotnicka spotted. *J. Anim. Bre. Gen.*, **116**(6): 519-24.
- Lý Thị Liên Khai, Nguyễn Thị Hạnh Chi và Nguyễn Thanh Lâm (2015). Khảo sát tỷ lệ nhiễm và xác định gene kháng kháng sinh của Enterotoxigenic *Escherichia coli* trên heo con tiêu chảy tại tỉnh Vĩnh Long và Đồng Tháp. *Tạp chí KH Trường Đại học Cần Thơ. Phần B: NN, TS&CNSH*, **39**: 7-17.
- Meijerink E., Fries R., Vögeli P., Masabanda J., Wigger G., Stricker C. and Stranzinger G. (1997). Two α (1, 2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and *Escherichia coli* F18 receptor (ECF18R) loci. *Mammalian Genome*, **8**(10): 736-41.
- Nguyễn Anh Tuấn và Nguyễn Bá Tiếp (2013). Vai trò của *Escherichia coli* và *Salmonella* spp. Trong hội chứng tiêu chảy ở lợn con trước và sau cai sữa: Nghiên cứu trên mô hình trại nuôi công nghiệp. *Tạp chí KHPT*, **3**(11): 318-27.
- Zhang Y., Wang M., Yu X.Q., Ye C.R. and Zhu J.G. (2015). Analysis of polymorphisms in the *FUT1* and *TAP1* genes and their influence on immune performance in Pudong White pigs. *Gen. Mol. Res.*, **14**: 17193-03.
- Zhao Q., Liu Y., Dong W., Zhu S., Huo Y., Wu S. and Bao W. (2014). Genetic variations of *TAP1* gene exon 3 affects gene expression and *Escherichia coli* F18 resistance in piglets. *Int. J. Mol. Sci.*, **15**(6): 11161-71.

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐA HÌNH GEN PROLACTIN ĐẾN MỘT SỐ TÍNH TRẠNG SINH SẢN Ở VỊT LAI HƯỚNG TRỨNG TB

Lê Bá Chung^{1*}, Võ Thị Kim Ngân², Lê Tấn Lợi² và Hoàng Tuấn Thành¹

Ngày nhận bài báo: 03/10/2022 - Ngày nhận bài phản biện: 23/10/2022

Ngày bài báo được chấp nhận đăng: 04/11/2022

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện trên nhóm vịt lai hướng trứng TB giữa vịt trống TC và vịt mái Biền. Phân cắt sản phẩm khuếch đại gen prolactin trên exon 5 bằng enzyme *PstI*, kết quả cho thấy có đa hình ở PRL/*PstI* với 2 allele C và T được nhận diện với tần số tương ứng là 0,82 và 0,18; tần số kiểu gen CC là 0,66; CT là 0,32 và TT là 0,02. Giá trị về hàm lượng thông tin đa hình (PIC) bằng 0,2516; hệ số dị hợp mong đợi (H_e) là 0,2952. Nhóm vịt lai hướng trứng TB với kiểu gen CC có tuổi đẻ thấp hơn có ý nghĩa so với CT (145,27 ngày so với 152,25 ngày; $P < 0,05$) và năng suất trứng đến 38 tuần tuổi cao hơn có ý nghĩa (99,27 quả so với 92,42 quả; $P < 0,05$). Không có sự khác biệt về khối

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi Gia cầm VIGOVA.

² Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.

* Tác giả liên hệ: Th.S Lê Bá Chung, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Chăn nuôi Gia cầm VIGOVA; Điện thoại: 0935393945; Email: lebachungbmt@gmail.com.