

漫晓丹,孟春花,王慧利,等.猪 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 单核苷酸多态性及其与 PRRSV 易感性的关联[J].江苏农业科学,2016,44(5):41-44.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.05.010

猪 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 单核苷酸多态性及其与 PRRSV 易感性的关联

漫晓丹^{1,2}, 孟春花², 王慧利², 李隐侠², 李齐发¹, 曹少先²

(1. 南京农业大学动物科技学院, 江苏南京 210095; 2. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏南京 210014)

摘要: *SLA-DRB1* 是影响猪体免疫反应、疾病感染和疫苗应答的重要因子。本研究对猪 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 序列进行扩增和测序,筛选多态性位点,分析其与 PRRSV(猪繁殖与呼吸综合征病毒)易感性的相关性。测序发现 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 存在 4 个单碱基突变(g. 17G/A, g. 95C/T, g. 137G/C 和 g. 232G/C)。针对 g. 232G/C 建立 PCR-RFLP 方法,检测 6 个猪种群共 227 个样本,发现在大白姜曲海杂交猪、姜曲海猪、长白猪、定远猪和杜洛克猪中有 GG(0.43, 0.80, 0.59, 0.54, 0.83)和 GC(0.57, 0.20, 0.41, 0.46, 0.17)2 种基因型,其他群体均为 GG 型。不同基因型猪肺泡巨噬细胞中 PRRSV 拷贝数在接毒后 6、12、18、24、36 h 差异均不显著($P > 0.05$),不同基因型猪血液中病毒载量在接毒后 4、7、11、14、21、28、35、42 d 差异均不显著($P > 0.05$),不同基因型对猪体质量和日增质量的影响不显著($P > 0.05$)。提示 *SLA-DRB1* 的 g. 232G/C 突变与 PRRSV 抗性无显著关联。

关键词: 猪繁殖与呼吸综合征病毒; *SLA-DRB1* 基因; 外显子; PCR-RFLP; 易感性; 碱基突变

中图分类号: S858.285.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)05-0041-04

猪繁殖与呼吸综合征 (PRRS) 是一种高度传染性疾病,以母猪繁殖障碍和仔猪的呼吸道疾病为特征,造成怀孕母猪流产、产死胎和仔猪的高死亡率等^[1]。其病原猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 具有高度变异性、抗体依赖性复制增强、巨噬细胞嗜性和持续性感染等特征^[2],导致现有的疫苗不能很好地控制 PRRS 的流行,PRRS 的防治仍然是养猪业头等难题之一^[3-4]。因此,猪对 PRRSV 的抗性也日益受到关注。国外已有多个课题组分别在体内外研究了 PRRSV 在不同猪种肺泡巨噬细胞 (PAM) 中复制和生长的特征,发现猪对 PRRSV 抗性或易感性存在品种 (系) 间的遗传差异^[5]。Murtaugh 等研究了猪对 PRRSV 的免疫应答,指出疾病的严重

性在猪品种间和群体间存在变异^[6]。Ait-Ali 等的研究表明 PRRSV 在来源于长白猪的 PAM 中的复制相对于其他商业遗传品系包括大白猪、皮特兰和另外 2 个合成系显著延迟、缓慢,然而,关于猪 PRRSV 抗性的遗传机制尚不清楚^[7]。

猪的主要组织相容性复合物 (MHC) 即猪白细胞抗原 (SLA),它是由紧密连锁、高度多态的基因位点所组成的染色体上的一个遗传区域,其基因产物为 MHC 抗原,主要功能是抗原递呈,与动物的抗病性有着密切的关系^[8]。SLA 按其抗原结构和功能主要分为 3 大类,即 I、II、III 类,SLA-DRB1 属于 II 类分子。目前,国内外对 SLA-DRB1 基因的研究主要集中在第二外显子多态性的研究上。张冬杰等通过对 SLA-DRB1 基因整个编码区进行分析,发现突变大多集中在第二外显子处,其他 3 个外显子突变较少^[9]。徐如海等研究表明,SLA-DRB1 近端调控区存在 24 个多态位点,其中 G-146T 位点与仔猪大肠杆菌 K88ab 黏附表型存在显著的关联^[10]。

Arceo 等对 200 头杂交猪进行 PRRSV 攻毒时发现,高病毒载量低体质量增加组相对于低病毒载量低体质量增加组 SLA-DRB1 基因表达量降低,提示 SLA-DRB1 可能在猪抗

收稿日期:2015-04-08

基金项目:国家自然科学基金 (编号:30972075); 江苏省农业科技自主创新资金 [编号: CX(12)2034]。

作者简介:漫晓丹 (1989—),女,河南汝州,硕士研究生,主要从事动物分子生物学研究。E-mail: 2013105022@njau.edu.cn。

通信作者:李齐发,博士,教授,主要从事动物分子遗传与育种研究, E-mail: liqifa@njau.edu.cn; 曹少先,博士,研究员,主要从事动物遗传育种研究, E-mail: caoshaoxian@163.com。

[8] 姜俊兵,于秀菊,田雪,等.干细胞因子及其受体 c-KIT 对羊驼毛囊黑色素细胞增殖与分化的影响及其机制[J].解剖学报, 2011, 42(1): 99-103.

[9] Hachiya A, Kobayashi A, Ohuchi A, et al. The paracrine role of stem cell factor/c-kit signaling in the activation of human melanocytes in ultraviolet-B-induced pigmentation[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2001, 116(4): 578-586.

[10] Snippet H J, Haegebarth A, Kasper M, et al. Lgr6 marks stem cells in the hair follicle that generate all cell lineages of the skin[J].

Science, 2010, 327: 1385-1389.

[11] Thierry J P, Acloque H, Huang R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. Cell, 2009, 139(5): 871-890.

[12] Zhu Y I, Fitzpatrick J E. Expression of c-kit (CD117) in Spitz nevus and malignant melanoma[J]. J Cutan Pathol, 2006, 33: 33-37.

[13] Tryggvason G, Hilmarsdottir B, Gunnarsson G H, et al. Tyrosine kinase mutations in gastrointestinal stromal tumors in a nation-wide study in Iceland[J]. APMIS, 2010, 118(9): 648-656.

PRRSV 过程中发挥重要作用^[11],但 *SLA-DRBI* 基因多态性与猪 PRRSV 抗性是否关联还未见报道。本研究对 2 个外来猪种、3 个地方猪种和 1 个杂交猪种群 *SLA-DRBI* 基因的外显子 3 进行测序,寻找多态性位点,同时分析其与 PRRSV 易感性的相关性,以期检测到与 PRRSV 易感性相关的分子标记,为 PRRSV 抗性育种提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验猪包括 6 个品种(或群体),共 227 头,其中大白姜曲海猪 115 头(江苏姜曲海种猪场)、姜曲海猪 10 头(江苏姜

曲海种猪场)、长白猪 37 头(杭州大关猪场)、大白猪 24 头(杭州大关猪场)、定远猪 11 头(安徽省定远县猪场)、杜洛克猪 30 头(杭州大关猪场),每个个体取耳组织于冻存管中,置于 -80 ℃ 中保存。PRRSV - NJGC 株由江苏省农业科学院兽医研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 组织样 DNA 提取 耳组织样的 DNA 提取采用酚/氯仿抽提法,然后于 -20 ℃ 保存备用。

1.2.2 *SLA-DRBI* 基因外显子 3 扩增 参照猪 *SLA-DRBI* 基因外显子序列设计引物 DRB - g3,由上海捷瑞公司合成,引物信息见表 1。

表 1 引物序列、复性温度及产物大小

引物名称	引物序列(5'→3')	GenBank 登录号	复性温度(℃)	产物大小(bp)
DRB - g3	F:CAAGGCTCATGGCACTAACT;R:GGCATCGGTGTTTGAGAGA	NC_010449.4	57	659
<i>Pvu</i> II - SNP	F:GCCACAGTGACGGTGTAT;R:GCTGAAGGACAGGAGAACAGG	NC_010449.4	56	403
β - <i>actin</i>	F:TCGCCCAACAAAACCACT;R:TTACCCTCCCTGAATCTGACA	AY550069	56	127
PRRSV - N	F:CCTAAGCCAAACCGTGAGAA;R:CCAGAGGCGTACAGGGACA	EF534357	56	207

PCR 反应总体系 20 μ L,其中含 DNA 模板(100 ng/ μ L) 2 μ L,2 \times Power *Taq* PCR MasterMix 10 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L,最终加灭菌蒸馏水至 20 μ L。PCR 反应程序:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,57 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 50 s,35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 7 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭(EB)染色,检测扩增结果。

1.2.3 多态位点测序筛选 不同品种每 5 头猪 DNA 等量混合构建 DNA 池,构建 6 个不同的 DNA 池,进行 PCR 扩增,电泳纯化后的 PCR 产物送上海美吉生物医药科技有限公司测序。

1.2.4 PCR - RFLP 分析 根据测序结果选择外显子 3 的 232 bp 处的多态位点,建立 PCR - RFLP 检测方法,引物 *Pvu* II - SNP 序列见表 1。PCR 反应总体系 20 μ L,其中含 DNA 模板(100 ng/ μ L)为 2 μ L,2 \times Power *Taq* PCR MasterMix 为 10 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L,最终加灭菌蒸馏水至 20 μ L。PCR 扩增条件为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,56 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 45 s,35 个循环;最后 72 ℃ 延伸 7 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,溴化乙锭(EB)染色,检测扩增结果。用 *Pvu* II 酶对引物 *Pvu* II - SNP 扩增的 PCR 产物进行酶切。酶切反应体系为 20 μ L,含 PCR 产物 6 μ L,*Pvu* II (10 U/ μ L)1 μ L,10 \times buffer G 2 μ L,灭菌蒸馏水 11 μ L;37 ℃ 条件下酶切 3 ~ 5 h。2.5 % 琼脂糖凝胶电泳检测酶切产物,溴化乙锭(EB)染色,培清 JS - 780 全自动凝胶成像分析仪拍照分析。

1.2.5 猪 PRRSV 易感性测定 PRRSV 易感性的体外测定采用 PAM 模型,参照 Ait - Ali 等的方法^[7]进行。简要步骤如下:分离猪肺泡巨噬细胞,接种 PRRSV 病毒,分别在接毒后 6、12、18、24、36 h 收集细胞,提取 RNA 反转录成 cDNA。针对 β - *actin* 基因、PRRSV 毒株 N 基因序列分别设计特异性引物 β - *actin* 和 PRRSV - N (表 1,由上海捷瑞公司合成)。以各 PAM 细胞的 cDNA 为模板 PCR 扩增基因片段,克隆至 T 载体,以此为模板,SYBR Green I 染料法进行定量 PCR(ABI 7500),绘制标准曲线。以 PRRSV - N 基因的拷贝数与 β - *actin* 基因拷贝数的比值作为易感性的参数。每组 3 个重复。

反应体系为 20 μ L,其中 SYBR Premix Ex *Taq* (2 \times) 10.0 μ L,上、下游引物(10 μ mol/L)各 0.8 μ L,ROX 0.4 μ L,模板 2.0 μ L,灭菌蒸馏水 6.0 μ L。反应条件为:95 ℃ 预变性 30 s;95 ℃ 5 s,60 ℃ 34 s,40 个循环,每个循环结束时收集荧光信号。

PRRSV 易感性的体内测定(115 头大白姜曲海猪)参照文献[11]的方法。简述如下:25 日龄大白姜曲海猪背部肌肉注射法接种 PRRSV 病毒,分别在接毒后 0、4、7、10、14、21、28、35、42 d 采血,全血样本提取 RNA 反转录成 cDNA。定量 PCR 检测 PRRSV - N 基因的拷贝数与 β - *actin* 基因拷贝数的比值,作为易感性的参数。

1.2.6 数据分析 猪不同基因型与 PRRSV 易感性及体质量和日增质量的关联分析采用 SPSS 17.0 软件的 Independent - Samples *t* Test,各指标以平均值 \pm 标准误表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 *SLA-DRBI* 基因外显子 3 的扩增及测序筛选 SNP

对猪 *SLA-DRBI* 基因外显子 3 进行 PCR 扩增,扩增产物的条带为 659 bp(图 1),与预期结果一致。测序分析显示,在 *SLA-DRBI* 基因外显子 3 的 17 bp 处出现 1 个 G/A 单碱基突变,95 bp 处出现 1 个 C/T 单碱基突变,137 bp 处出现 1 个 G/C 单碱基突变,232 bp 处出现 1 个 G/C 单碱基突变(图 2)。经分析,外显子 3 的 232 bp G/C 突变处于 *Pvu* II 酶切位点识别区,而其他 3 个碱基突变处无合适的限制性内切酶识别位点,因此选择 232 bp 处的 G/C 突变进一步研究。

2.2 PCR - RFLP 分析

针对外显子 3 的 232 bp 处 G/C 单碱基突变设计特异性引物,命名为 *Pvu* II - SNP。对猪 DNA 进行 PCR 扩增,扩增产物为 403 bp(图 3),与预期结果一致。

用限制性内切酶 *Pvu* II 对引物 *Pvu* II - SNP 扩增的 PCR 产物进行消化,以 PCR 产物作为对照电泳,CC 型不能在该突变位点切开 PCR 产物,GG 型切开后为 228 bp 和 175 bp 的 2 个片段,GC 型切开后为 403 bp、228 bp 和 175 bp 的 3 条片段,

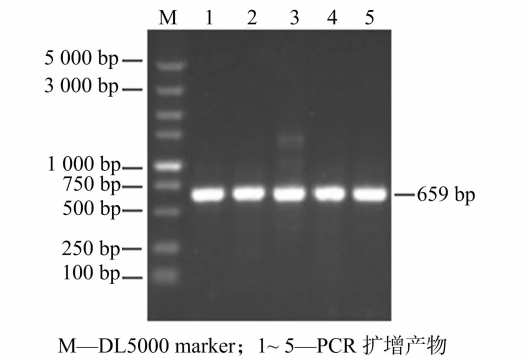


图1 猪 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 PCR 产物扩增电泳图

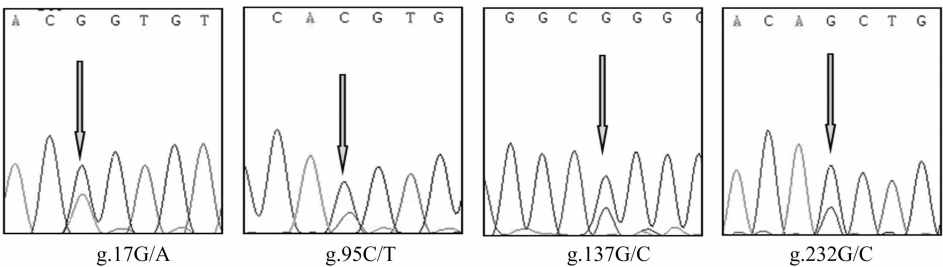


图2 猪 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 单碱基突变

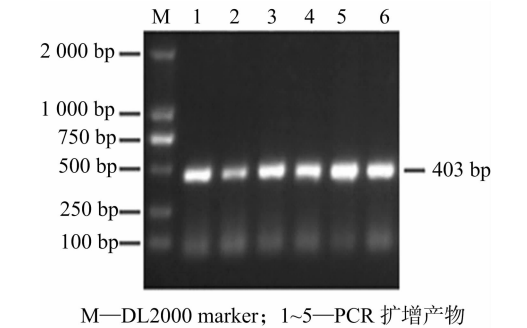


图3 *Pvu* II-SNP引物 PCR 产物电泳图

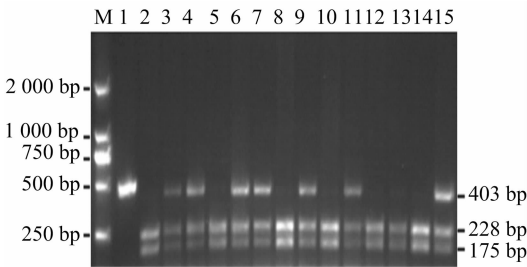


图4 PCR 产物的 *Pvu* II 酶切分型

2.5 不同基因型猪接种 PRRSV 后体质量及日增质量的变化
对 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 的 232 bp 突变不同基因型共 115 头大白姜曲海猪进行分析,发现接种 PRRSV 后不同天数的体质量和日增质量差异均不显著($P>0.05$) (表 5)。

3 讨论与结论

主要组织相容性复合物(MHC)是由紧密连锁、高度多态的基因座所组成的染色体上的一个遗传区域^[12]。它起着编

图 4 显示的是酶切后的 GG 型与 GC 型电泳图。
2.3 *SLA-DRB1* 基因群体遗传学分析
在所检测的各猪种群 227 个样本中 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 的 232 位点处 G/C 突变只检测到 GG 和 GC 2 种基因型,除大白姜曲海猪群体以外均以 GG 型居多,GC 型次之,G 等位基因占优势(表 2)。
2.4 不同基因型猪群体的 PRRSV 易感性
比较 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 的 232bp 突变处不同基因型猪 PAM 接种 PRRSV 后不同时间点 PRRSV 拷贝数,发现 GG 型与 GC 型差异均不显著($P>0.05$) (表 3);比较不同基因型猪血液中 PRRSV 载量,发现在接种 PRRSV 后不同天数 GG 型与 GC 型差异均不显著($P>0.05$) (表 4)。

表 2 *SLA-DRB1* 基因外显子 3 的 232 bp 处基因型频率及等位基因频率

群体	基因型频率		等位基因频率	
	GG	GC	G	C
大白姜曲海				
杂交猪	0.43 (50/115)	0.57 (65/115)	0.72	0.28
姜曲海猪	0.80 (8/10)	0.20 (2/10)	0.90	0.10
长白猪	0.59 (22/37)	0.41 (15/37)	0.80	0.20
大白猪	1 (24/24)	0	1	0
定远猪	0.54 (6/11)	0.46 (5/11)	0.77	0.23
杜洛克猪	0.83 (25/30)	0.17 (5/30)	0.92	0.08

表 3 不同基因型猪 PAM 接种后不同时间点 PRRSV 拷贝数

接种时间 (h)	PRRSV 拷贝数	
	GG	GC
6	1 626.01 ± 574.20	5 037.43 ± 2 698.64
12	39 219.34 ± 10 690.46	32 086.48 ± 8 950.48
18	11 411.51 ± 2 381.19	1 5017.36 ± 3 768.14
24	3 161.81 ± 1 005.90	7 801.52 ± 3 270.26
36	1 211.94 ± 529.02	1 994.00 ± 738.32

表 4 不同基因型猪接种后不同天数血液中 PRRSV 拷贝数

接种时间 (d)	PRRSV 拷贝数	
	GG	GC
4	3 360.88 ± 1 694.50	5 156.95 ± 3 040.10
7	293 549.77 ± 125 403.46	230 046.68 ± 132 771.46
11	2 296 435.00 ± 1 123 858.20	1 161 869.04 ± 528 352.79
14	5 144 134.51 ± 3 379 982.92	1 958 587.59 ± 938 802.24
21	392 719.40 ± 139 360.15	587 515.19 ± 173 995.19
28	936 788.68 ± 592 478.27	562 873.00 ± 349 595.09
35	73883.24 ± 48792.84	58 519.47 ± 46 392.91
42	11 055.06 ± 10 009.48	14 072.32 ± 13 653.24

表 5 大白姜曲海猪不同基因型接种 PRRSV 后体质量及日增质量

接种时间 (d)	体质量(kg)		日增质量(kg)	
	GG	GC	GG	GC
0	4.55 ± 0.16	4.75 ± 0.13		
4	5.09 ± 0.16	5.25 ± 0.13	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.01
7	5.38 ± 0.18	5.49 ± 0.15	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.01
11	6.03 ± 0.21	6.28 ± 0.18	0.16 ± 0.01	0.20 ± 0.02
14	6.65 ± 0.24	6.88 ± 0.19	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.02
21	8.18 ± 0.37	8.48 ± 0.26	0.25 ± 0.02	0.22 ± 0.02
28	9.98 ± 0.42	9.71 ± 0.41	0.23 ± 0.03	0.20 ± 0.02
35	11.62 ± 0.47	11.34 ± 0.43	0.17 ± 0.02	0.24 ± 0.02
42	13.89 ± 0.59	12.95 ± 0.67	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.02

码移植抗原、调节免疫应答、控制免疫球蛋白和补体的生成以及协调免疫细胞各亚群的作用,与动物的抗病性有着紧密的关联^[13]。Penn 等通过对小鼠的 MHC 研究发现,MHC 的杂合型个体对病原体的抵抗和环境适应性都比纯合型强^[14]。贾斌等在对新疆多浪羊和中国美利奴羊的 MHC - DRB1 第二外显子进行 PCR - RFLP 多态性分析,发现了与包虫病抗性和易感性相关的等位基因及基因型^[15]。余智勇等研究多浪羊 MHC - DRB1 基因的多态性时发现,该基因杂合型个体较多,而纯合型个体相对较少^[16],这可能是多浪羊对环境适应能力强的一个原因。

SLA 基因是影响猪体免疫反应、疾病感染和疫苗应答反应的重要因素^[17]。国内外对 MHC - DRB1 基因的研究多集中在其第二外显子多态性,有关该基因第三外显子多态性与猪抗病力的关联研究未见报道。Nielsen 等研究发现,PRRSV 感染后猪外周血中表达 SLA II 类分子的免疫细胞数量增加^[18]。谈永松等的研究表明,SLA - DRB1 基因第二外显子 Rsa I 酶切后可得到 4 种等位基因条带:141/93/11 bp、111/69/54/11 bp、180/54/11 bp、93/48/39/54/11 bp,分别标记为 A、B、C、D。其中五指山猪分出 2 种带型:AA、BB;二花脸猪分出 3 种带型:AA、BB 和 AB;皮特兰猪分出 3 种带型:AA、CC 和 BD^[19]。杨彤彤等采用同样方法对大约克猪、二花脸猪的 SLA - DRB1 基因外显子 2 进行了分型,发现在这 2 个猪种中仅存在 A、B、D 等位基因^[20]。徐如海等的研究表明 SLA - DRB1 基因外显子 2 中位点 29、149、170 对 0 ~ 28 日龄仔猪血清 IgG 含量有显著影响^[10]。

本研究针对大白姜曲海杂交猪及 5 个不同品种猪 SLA - DRB1 基因外显子 3 第 232 bp 处 G/C 突变进行分析,发现该位点仅存在 GC 和 GG 2 种基因型,且除大白姜曲海杂交猪群体以外均以 GG 型居多,GC 型次之,G 等位基因是优势基因。体内外模型分析显示,SLA - DRB1 基因外显子 3 第 232 bp 处 G/C 突变不同基因型间 PRRSV 拷贝数差异不显著,体质量及日增质量亦不显著,说明该 SNP 位点可能不是影响 PRRSV 抗性的位点,g. 17G/A、g. 95C/T、g. 137G/C 位点与 PRRSV 的抗性是否关联还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Albina E. Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview[J]. Veterinary Microbiology, 1997, 55 (1/2/3/4): 309 - 316.

[2] 蒲 静. PRRSV 对猪肺泡巨噬细胞天然免疫功能影响的分子机制[D]. 北京:中国农业大学,2005:14 - 16.

[3] Boddicker N, Waide E H, Rowland R R, et al. Evidence for a major QTL associated with host response to porcine reproductive and respiratory syndrome virus challenge[J]. Journal of Animal Science, 2012, 90(6): 1733 - 1746.

[4] 磨美兰. PRRSV 感染对猪肺泡巨噬细胞外源性抗原加工递呈功能的影响[D]. 北京:中国农业大学,2005:14 - 17.

[5] 丰秀静,曹少先,孟春花,等. 猪对 PRRSV 易感性差异的研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2010, 42(12): 99 - 103.

[6] Murtaugh M P, Xiao Z G, Zuckermann F. Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection[J]. Viral Immunology, 2002, 15(4): 533 - 547.

[7] Ait - Ali T, Wilson A D, Westcott D G, et al. Innate immune responses to replication of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in isolated Swine alveolar macrophages[J]. Viral Immunology, 2007, 20(1): 105 - 118.

[8] 王世若,王兴龙,韩文瑜. 现代动物免疫学[M]. 长春:吉林科学技术出版社,1996:78 - 79.

[9] 张冬杰,杨国伟,刘 娣. 民猪的 SLA - DRB 基因的 PCR - RFLP 多态性分析[J]. 生命科学研究, 2007, 11(4): 373 - 376.

[10] 徐如海,王 昆,孙东晓,等. 猪 MHC - DQB, DRB 近端调控区序列及其多态性[J]. 遗传学报, 2005, 32(3): 282 - 288.

[11] Maria E A, Catherine W E. Characterizing differential individual response to PRRSV infection through statistical and functional analysis of gene expression[J]. Frontiers in Genetics, 2013, 321(3): 1 - 12.

[12] 刘子展. 贵州小型猪 SLA 经典 I 类和 II 类基因克隆和生物信息学分析及 PCR - SSP 分型方法的建立[D]. 合肥:安徽农业大学, 2012:7 - 8.

[13] 吴圣龙,鞠慧萍,孙鹏翔,等. 苏太猪 SLA - DQB 和 SLA - DRB 基因第 2 外显子多态性及其与繁殖性能的关联分析[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(4): 606 - 611.

[14] Penn D J, Damjanovich K, Potts W K. MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple - strain infections[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(17): 11260 - 11264.

[15] 贾 斌,申 红,余智勇,等. 多浪羊和中国美利奴羊 MHC - DRB1 基因多态性与包虫病的遗传易感性[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(10): 1004 - 1008, 1012.

[16] 余智勇,李 海,贾 斌,等. 多浪羊 MHC - DRB1 基因多态性与包虫病抗性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(11): 1149 - 1153.

[17] 莫斯科. 中国合作猪 SLA I 类和 II 类分子的克隆及基因结构与多态性分析[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2009:17 - 19.

[18] Nielsen J, Bøtner A, Tingstedt J E, et al. In utero infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus modulates leukocyte subpopulations in peripheral blood and bronchoalveolar fluid of surviving piglets[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2003, 93(3/4): 135 - 151.

[19] 谈永松,周 波,王林云. 五指山、二花脸和皮特兰猪的 SLA - DRB 基因外显子 2 PCR - RFLP 及 PCR - SSCP 多态性分析[J]. 遗传学报, 2005, 32(2): 163 - 169.

[20] 杨彤彤,张婷婷,赵 族,等. 大约克猪和二花脸猪 SLA - DRB 基因外显子 2 的 PCR - RFLP 多态性分析[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(4): 169 - 171.