

# 五指山小型猪近交系白细胞抗原 I 类 3 基因的研究

孙俊丽<sup>1,2</sup>, 牟玉莲<sup>1</sup>, 刘小林<sup>3</sup>, 冯书堂<sup>1</sup>, 王素荣<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院畜牧研究所, 北京 100094; <sup>2</sup>广西畜牧研究所, 南宁 530001; <sup>3</sup>西北农林科技大学, 杨凌 712100; <sup>4</sup>承德职业学院, 承德 067000)

**摘要:** 【目的】为探讨五指山小型猪 (WZSP) 近交系群体中 SLA I 3 (SLA-3) 位点等位基因分布结构及其特性。【方法】利用 4 对引物, 采用 RT-PCR 扩增了 32 头 WZSP SLA-3 基因部分外显子 1、外显子 2 和大部分外显子 3 序列。根据家系和扩增结果, 选择 8 头个体的 PCR 产物克隆测序。【结果】获得 9 个不同的核苷酸序列。与 GenBank 中所用 SLA-3 基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列进行比较分析, 确定这 9 个序列均为 SLA-3 位点上的新等位基因, 但这些等位基因间核苷酸变异很少; 氨基酸序列比较发现猪和人之间有很高的保守性。同时, 构建了 23 个 SLA-3 的等位基因和 1 个 HLA-A 等位基因核苷酸序列的系统树。【结论】WZSP 在 SLA-3 位点和其它猪品种有明显的差异, 拥有其独特的遗传资源。从分子水平为 WZSP SLA-3 基因的分子分型及特异单倍体猪的培育和异种器官移植实验用动物的研究提供理论依据。

**关键词:** 五指山小型猪近交系; 白细胞抗原; 经典 SLA I 3 基因; RT-PCR

## Study on SLA Class I -3 Gene for Inbreeding WZSP

SUN Jun-li<sup>1,2</sup>, MU Yu-lian<sup>1</sup>, LIU Xiao-lin<sup>3</sup>, FENG Shu-tang<sup>1</sup>, WANG Su-rong<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100094; <sup>2</sup>Guangxi Institute of Animal Science, Nanning 530001; <sup>3</sup>Northwest Agricultural & Forest University, Yangling 712100; <sup>4</sup>Chengde Vocational College, Chengde 067000)

**Abstract:** 【Objective】The purpose of this study is to elucidate the structure of SLA-3 alleles in inbred line of Wuzhishan pig (WZSP) population. 【Method】The partial exon1, completed exon2 and partial exon3 of SLA-3 loci using reverse transcription-polymerase chain reaction and sequencing-based method in 32 WZSPs were examined. According to the pedigree and amplification results, PCR products of 8 WZSPs were selected for cloning and sequencing. 【Result】Nine different nucleotide sequences were obtained. After comparing DNA and protein sequences of the WZSPs SLA-3 alleles with published GenBank SLA sequences, these SLA-3 alleles found in WZSPs were all novel, but there were very few variation among them. Comparisons of SLA-3 and HLA-A protein sequences indicated that there was more sequence homology. Meanwhile, construction of a phylogenetic tree using the nucleotide sequences of 23 SLA-3 alleles and 1 HLA-A allele represented that WZSPs population owns its unique genetics resource. 【Conclusion】The alleles of SLA-3 in WZSPs group were successfully detected and analysed, which provided a firm basis on the genotype of SLA-3 and breeding specific haplotypes WZSPs.

**Key words:** Inbreeding Wuzhishan pig; Leucocyte antigen; SLA classical class-I 3 gene; RT-PCR

## 0 引言

【研究意义】以猪作为供体进行猪-人异种器官移植, 是解决临床移植中器官短缺最有希望的途径之一<sup>[1,2]</sup>。SLA I 类分子是引起急性细胞性排斥反应的核心因素和器官移植配型的主要位点<sup>[3]</sup>。【前人研究进

展】猪的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC), 又称作猪白细胞抗原 (swine leukocyte antigen, SLA), 它编码移植抗原, 控制移植排斥反应, 参与免疫应答调控和免疫识别及抗原递呈, 一直以来都是家畜免疫遗传学和抗病育种研究领域中的一个热点<sup>[4]</sup>。SLA 位于猪的第 7 号染色体着丝粒两边,

收稿日期: 2006-06-18; 接受日期: 2006-11-05

基金项目: 科技部“863”(2003AA205100)课题、科技基础性工作和社会公益研究专项(2001DEA10006)和“十五”科技攻关项目(2003DEB6J078)

作者简介: 孙俊丽(1980-), 女, 山西运城人, 硕士研究生, 研究方向为动物遗传资源。E-mail: sjn313@126.com; 通讯作者冯书堂(1945-), 男, 河北大名, 研究员, 研究方向为动物遗传资源。Tel: 010-62815893; E-mail: Fst508@sina.com

由 SLA I、SLA II、SLA III 3 个基因区域组成<sup>[5]</sup>。SLA I 位于染色体的短臂，目前已定位了 12 个 SLA I 基因座，即 SLA-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -11, 及 MIC-1, MIC-2, 大致可分为以下 4 类：I 类 a 基因 (SLA-1, -2, -3)、I 类 b 基因 (SLA-6, -7, -8)、I 类相关基因 (MIC-1, MIC-2)、I 类假基因 (SLA-4, -5, -9, -11)<sup>[6]</sup>。他们在染色体上的排列顺序：从靠近着丝粒端的 SLA-6 开始，依次为 SLA-7, -8, MIC-1, MIC-2, SLA-11, -4, -2, -3, -9, -5, -1。其中，SLA-1, -2, -3 是功能基因，分别对应 SLA-C, -B, -A 血清型<sup>[7,8]</sup>。在 NIH 小型猪中，分离到 7 个 I 类基因：PD1, PD4, PD7, PD14, PD15, PD8 和 PD6。其中 PD1, PD7, PD14 是功能基因，分别对应 SLA-1, -3, -2 功能基因<sup>[9-11]</sup>。【本研究的切入点】为确证中国异种器官移植猪品种<sup>[12]</sup>—五指山小型猪 (WZSP) 近交系 SLA I 类分子等位基因分布及其特征，以及与人的核苷酸和氨基酸的变异点。【拟解决的关键问题】本试验采用 4 对特异引物对 SLA-3 位点的等位基因在 WZSP 近交系群体中的分布作检测，为开展 WZSP 近交系 SLA I 基因分型，确定其单倍型及特异单倍型猪的培育等研究奠定基础。

表 1 SLA-3 基因的引物

Table 1 Primer pairs used for amplification of the SLA-3 genes

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequences	片段大小 Size(bp)	退火温度 Annealing temperature(°C)	序列号 Accession No.
SLA-3-L1/R1	5'-CCCAGCCCTCTTCTTGCT-3' 5'-TTTCTGGAGCCACACCACA-3'	566	65	H01:AJ131112
SLA-3-L2/R2	5'-GACCCTGGCCCTGACTGGT-3' 5'-GGAGCCACTCCACACACGC-3'	533	68	PC1:AF014003
SLA-3-L3/R3	5'-CCGAGCCCTCTTCTGCTG-3' 5'-TTTCTGGAGCCACTCCACA-3'	565	66	PD7:M59750
SLA-3-L4/R4	5'-GACCCTGGCCCTGACTGGT-3' 5'-GGAGCCACACCACACACGC-3'	533	68	H01:AJ131112

和反转录试剂盒推荐的方法分别进行总 RNA 提取和 cDNA 第一链的合成。PCR 扩增采用 20  $\mu$ l 体系，各组分别为：10 $\times$ buffer (含  $Mg^{2+}$ ): 2  $\mu$ l; 10 nm 4 dNTP Mixture: 0.3  $\mu$ l; 10 pm 引物 L, R 各 0.4  $\mu$ l; TaqE: 0.6U; cDNA: 1.2  $\mu$ l; 补水至 20  $\mu$ l, PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 40 s, 退火 (如表 1) 40 s, 72 $^{\circ}$ C 40 s, 33 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。每个个体都需用这 4 对引物分别进行扩增，1.5%琼脂糖凝胶检测 PCR 扩增结果，做好记录，为下步克隆测序做准备。

1.2.3 PCR 产物的克隆和序列测定 PCR 产物经琼脂糖凝胶回收，连接至 pGEM-T Easy Vector，转化

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和实验动物

IRIzol<sup>R</sup> Reagent: Invitrogen 公司; TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0: 宝生物工程 (大连) 有限公司; 质粒小量快速回收试剂盒: 北京道普生物技术开发中心; DEPC、Amp、异丙基硫代半乳糖苷 (IPTG)、X-gal: Sigma 公司; Triptona、Yeast Extract: OXOID 公司; EcoR I 核酸内切酶: 北京赛百盛基因技术有限公司; pGEM-T Easy Vector System I: Promega 公司; 引物由上海博亚生物技术有限公司合成。

根据 WZSP 近交系群体的系谱，每个家系选择 8 头猪，4 个家系，共有 32 头样品进行 PCR 检测。由中国农业科学院畜牧研究所试验猪场提供。采集耳组织样，液氮保存。

### 1.2 方法

1.2.1 PCR 引物的设计与合成 利用 4 对特异引物<sup>[3]</sup>可扩增 GenBank 中所有 SLA-3 的等位基因。扩增产物包括部分外显子 1、外显子 2、大部分外显子 3。引物序列如表 1。

1.2.2 RT-PCR 扩增 SLA-3 基因 按 TRIzol 试剂盒

DH5 $\alpha$  感受态。抽提质粒，经 EcoR I 核酸内切酶酶切鉴定重组质。序列测序过程由上海博亚生物技术有限公司完成。

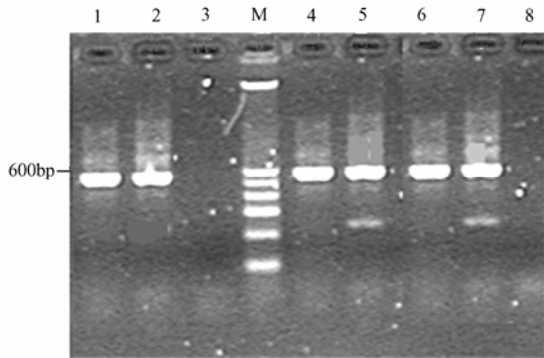
1.2.4 序列拼接和分析 利用 DNASTar 软件对所测序列进行拼接比对; MEGA3 软件对所测序列和 NCBI 上其它相应序列进行核苷酸聚类及推导编码的蛋白质序列分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 RT-PCR 扩增产物结果和重组质粒鉴定

4 对引物中，仅有 SLA-3-L1/R1 和 SLA-3-L3/R3

可分别在 WZSP cDNA 中扩增出一条长度为 566 bp 和 565 bp 的条带, 1.5%琼脂糖电泳检测。结果见图 1。



M. 100bp 分子量 marker; 3, 8. 没有条带; 1, 2, 4~7. SLA-3-L1/R1 引物扩增产物  
M. 100bp molecular marker; 3, 8. No result; 1, 2, 4-7. Amplification result by SLA-3-L1/R1

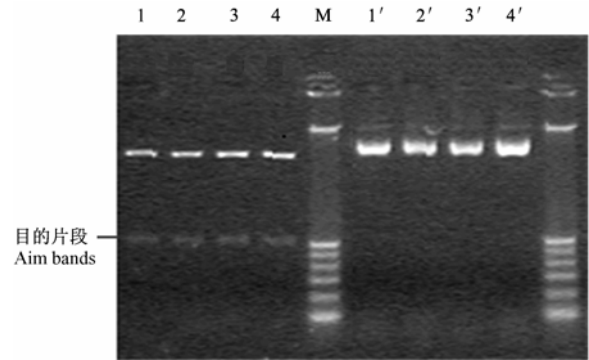
图 1 WZSP 近交系 SLA-3-L1/R1 扩增结果  
Fig. 1 The PCR result of SLA-3-L1/R1

### 2. 2 PCR 测序结果

根据 WZSP 近交系系谱和扩增结果, 从 32 头 WZSP 中选择 8 头测序, 因只有两对引物能够扩增出目的片段, 共测 16 个样品。

### 2. 3 WZSP SLA-3 位点的等位基因核苷酸序列分析

将所测序列和 GenBank 上的等位基因序列进行比

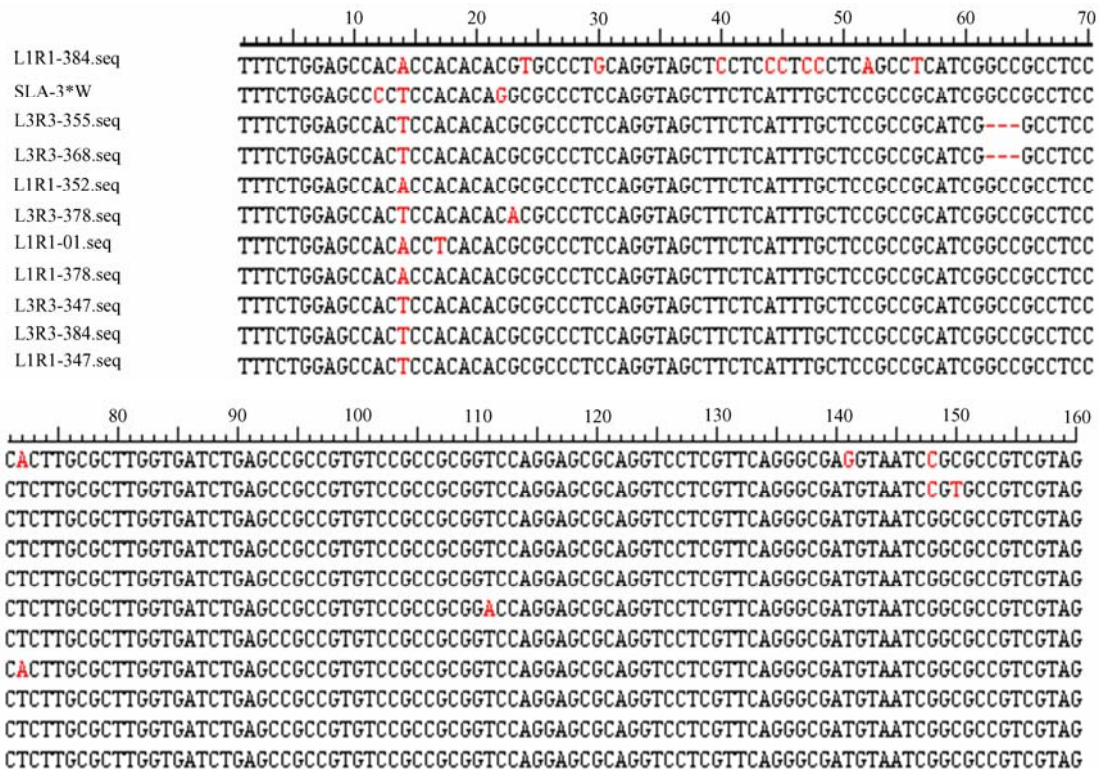


M. 100bp 分子量 marker; 1~4. 酶切鉴定; 泳道 1'~4'. 质粒 DNA  
M. 100bp molecular marker; 1-4. Enzymolysis identification by *EcoR* I; 1'-4'. Recombinated plasmids DNA

图 2 质粒提取及 *EcoR*I 酶切鉴定电泳图

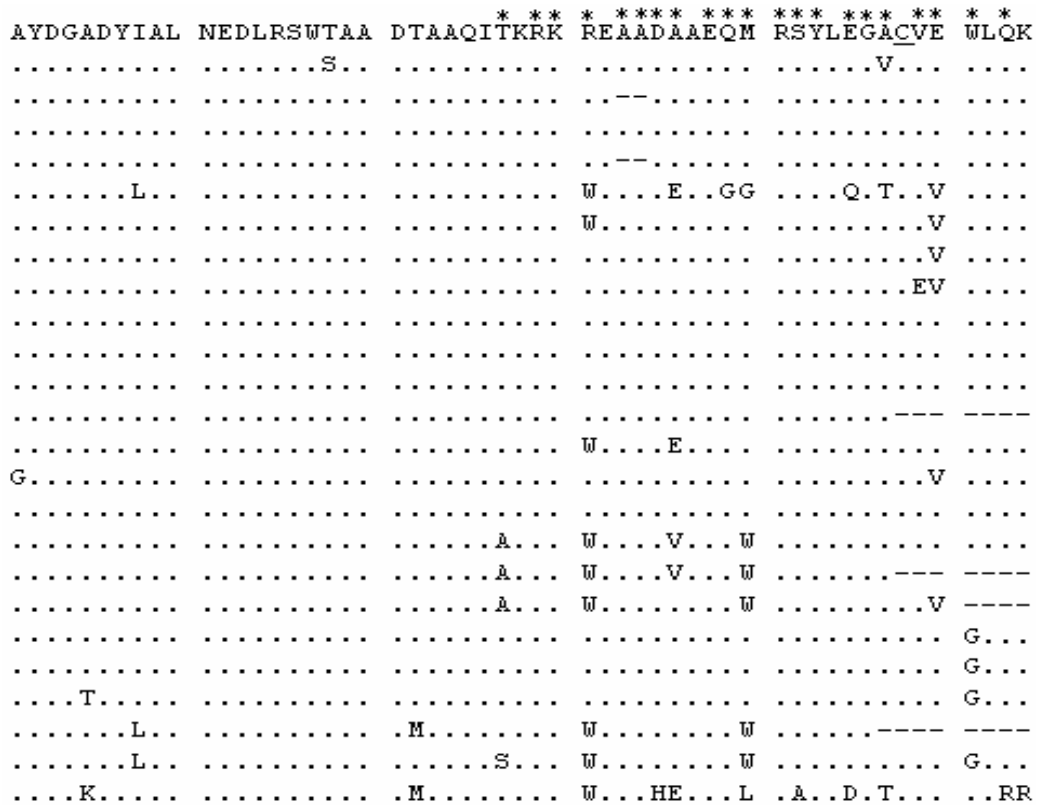
Fig. 2 Results of SLA-3 PCR production cloned and enzymolysis identification of recombined plasmids DNA by *EcoR* I

较分析, 发现其中有 9 个序列为 SLA-3 位点的新等位基因, 但这些等位基因间核苷酸变异很少, 有的序列间仅有 1~3 个核苷酸差异, 最多的也仅有 47 个核苷酸变异。其中, L3R3-384 和 L1R1-347 仅有一个碱基突变, 且为无义突变, 归为同一等位基因。而与 GenBank 上其它相应的等位基因间则有很大的核苷酸变异。其核苷酸序列比对见图 3。









“.”代表与 L3R3-384 氨基酸序列一致的位点；“-”代表数据缺失；“\*”代表 ARS 氨基酸残基；带方块 NQS 和 C 分别代表 N 端连接的糖原和两个半胱氨酸残基； $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  代表区域的边界  
 A dot indicates an identical amino acid with that of the L3R3-384 sequence. An dash corresponds to the absence of data. An asterisk above the sequence of each domain indicates an ARS codon. Boxed NQS and C show N-linked glycosylation consensus sequences and cysteine residue, respectively. A line indicates a domain boundary

图 4 SLA-3 重链  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  功能区氨基酸序列比对

Fig. 4 Alignment of deduced amino acid sequences coding for the signal peptide, and  $\alpha_2$  domains of the SLA I heavy-chain proteins. The amino acid sequences are aligned with the L3R3-384 sequence

酸变异主要集中在 50~85 之间，与 Parham 等<sup>[13]</sup>证实的 HLA I 类抗原分子结合槽的  $\alpha$  螺旋部分一致。而氨基酸的另一高变区，即  $\alpha_2$  功能区的  $\beta$ -折叠和  $\alpha$ -螺旋，则分别集中在氨基酸序列的 98~119 和 146~172 区域。与 HLA I 类分子  $\alpha_2$  功能区 CD8 分子识别结合序列比较，发现猪该基因编码的氨基酸序列在 105~118 之间的 105、112 和 118 等<sup>[14]</sup>3 个关键氨基酸残基与人

的完全相同，具有很好的保守性。

### 2.5 SLA I 类分子与 HLA I 类分子中自然杀伤细胞 (NK 细胞) 受体的配体序列比较

发现 SLA I 类分子中缺乏与 NK 细胞受体结合的关键氨基酸残基序列<sup>[15]</sup> (表 4, 下划线为结合所必需的氨基酸残基)。

### 2.6 SLA-3 位点等位基因核苷酸序列系统树的构建

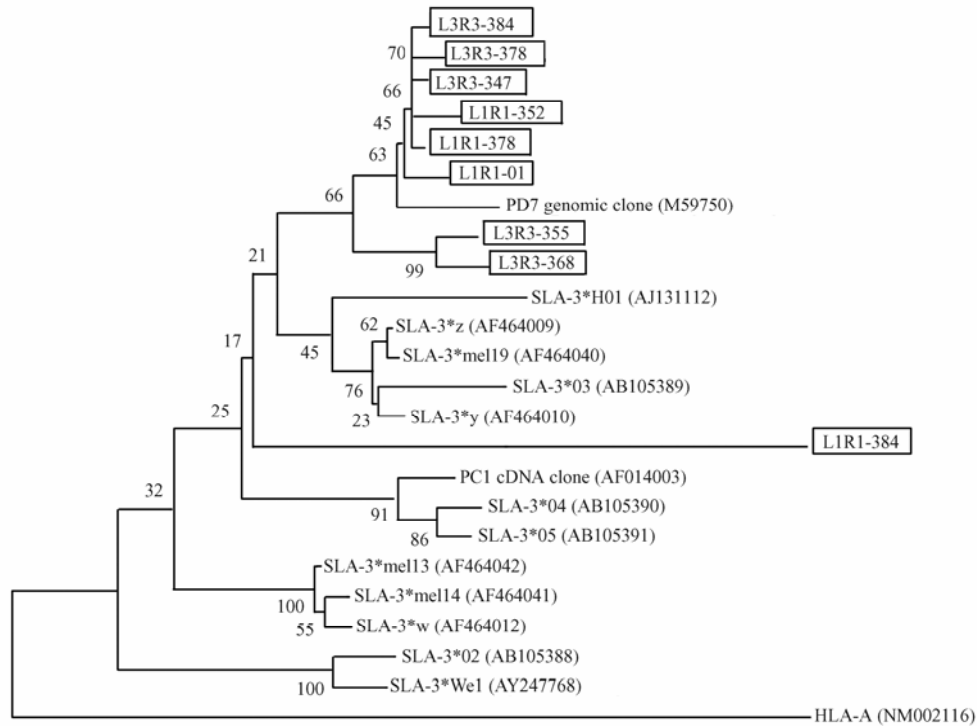
表 2 SLA I 类分子与 HLA I 类分子中 NK 细胞受体的配体序列比较

Table 2 Sequence comparison on matcher of nature kill cell receptor between SLA and HLA I moleculer

		67	68	69	70			
NK clone 1	HLA-Cw3	N	L	R	K			
NK clone 2	HLA-Cw4	S	L	R	N			
NK clone 3	HLA-Cw0604	N	L	R	I	A	L	G
	WZSP-PD7	E	Q/K	E/A	G	Q	E	Y

为了研究 WZSP 近交系群体中这 9 个新 SLA-3 等位基因与其它猪品种和人相应等位基因间的遗传关

系，利用邻接法构建其核苷酸系统树，（图 5，人的等位基因作为外群）。



带方块的为 WZSP 近交系群体的等位基因  
A box indicates a novel allele from WZSP population

图 5 SLA I 3 位点等位基因系统树

Fig. 5 Phylogenetic tree of alleles from SLA I 3 locus

WZSP 近交系群体的等位基因除 L1R1-384 外，可以很容易和 PD7genomic clone 聚合在一个很小的基因簇内，且 bootstrap 值在 60%以上，而 L1R1-384 既不和 WZSP 近交系其它等位基因聚合，也不聚合在 GenBank 上其它的等位基因簇内，则单独分出一支。通过 MP 构建系统树，除表现以上情况外，还可得出 L1R1-384 与人的相应基因有更近进化关系，但其 bootstrap 值仅为 21，不能有力地证实其准确性。根据核苷酸系统树和 2004 年 7 月确定的 SLA I 类基因系统的命名法<sup>[16]</sup>，可将 WZSP 目前已经测序的 SLA-3 所有的等位基因分为两个等位基因组，其中 L1R1-384 为一个等位基因组（还有待进一步的扩充），其它的为另外一个等位基因组。

### 3 讨论

#### 3.1 WZSP 近交系 SLA-3 位点的等位基因分析

相对于人的 HLA I 类等位基因数量，已经报道的

SLA I 类等位基因数量非常有限<sup>[17,18]</sup>。获得更多的 SLA I 类位点新等位基因的核苷酸序列将有重要地意义。本试验利用 4 对特异性引物序列，对 WZSP 近交系群体中 SLA-3 等位基因的分布进行了检测。对其 RT-PCR 产物序列分析发现了 9 个新的 SLA-3 等位基因，扩充了 SLA-3 基因遗传资源。在本试验中，有 4 头个体只能扩增出一条目的片段。根据 MHC 的共显性特点，推测可能有两种情况，一是该个体为纯合子，二是存在用所设计的特异性引物不能扩增出来的新等位基因。但就所查资料来看，第二种可能性很小。目前只需采集那 4 头组织样，扩增全长 cDNA 序列及克隆测序证实这种可能性。由于时间的限制，未再做进一步的研究。此外，图 5 SLA I 3 位点等位基因系统树聚类分析来看，WZSP 近交系 L1R1-384 等位基因单独分为一支，拥有其独特的等位基因组，证明 WZSP 是中国独特的一个遗传资源库。

#### 3.2 WZSP 近交系 SLA-3 基因编码的氨基酸序列分析

比较了 SLA-3 重链  $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  功能区和人相应区域氨基酸序列 (图 4), 发现有许多相同的氨基酸残基, 猪和人之间有很高的保守性。不同种属动物的 MHC 分子仅存在较小差异, 可能提示猪-人异种移植的排斥反应中, 直接识别机制占有一定的地位。另一方面, 将其氨基酸序列与 HLA-A 氨基酸序列中与 CD8 分子结合的部分进行比较, 发现编码的氨基酸序列中与参与结合所必需的关键氨基酸残基完全一致, 这种保守性有可能降低移植时的不相容性, 即 SLA I 类分子本身作为外来抗原不被人 T 细胞间接识别。这是否证实猪是人类异种器官移植的理想来源, 有待于对 SLA 基因功能及与人的 T 细胞免疫位点的研究。同时, 有必要利用 MEGA3 和 Adapsite Package program 两个软件<sup>[19,20]</sup>, 从自然选择角度分析猪和人在单一氨基酸位点正向和负向选择之间的差异, 还有待于以后的进一步完善。

### 3.3 与人 HLA I 类分子中 NK 细胞受体的配体序列比较分析

现在培育表达人类补体调节蛋白的转基因猪已告成功, 超急性排斥反应 (hyperacute rejection, HAR) 理论上已被克服。因此, 异种移植后的迟发性排斥反应 (delayed xeno-rejection, DXR) 成为了人们研究的重点。DXR 主要由移植后诱发的异种反应性抗体 (xenoreactive natural antibody, XNA) 介导内皮细胞活化和单核细胞介导 ADCC 效应所致, 其效应机制除种属特异性的自然杀伤细胞 (NK 细胞) 和/或单核细胞介导 ADCC 效应外, CD4 和 CD8 T 细胞均可独立介导异种移植排斥反应<sup>[21-23]</sup>。NK 细胞专一性识别那些不表达 MHC I 类分子的靶细胞<sup>[24]</sup>。通过多种 NK 细胞表面受体 (抑制性受体或活化性受体) 识别自身的 MHC I 类分子或 MHC-Ag 肽复合物, 产生抑制性或活化性信号, 抑制或活化 NK 细胞<sup>[25]</sup>。本文将获得 WZSP 近交系 SLA-3 抗原分子的氨基酸序列和 HLA-I 类分子中与 NK 细胞受体的配体序列进行比较, 发现 SLA I 类分子缺乏这些与 NK 细胞受体结合的关键氨基酸残基, 这一现象可能有两种截然相反的生物学意义: 由于 SLA I 类分子不能与抑制性受体结合, 使猪移植物细胞易遭到受者 (人) NK 细胞的杀伤; 也可能由于 SLA I 类分子不能与活化性受体结合, 使猪移植物细胞可逃避某些 NK 细胞的杀伤。

## 4 结论

通过对 WZSP 近交系 SLA-3 基因的研究, 发现 9

个核苷酸序列变异很少的 SLA-3 位点的新等位基因, 但与 GenBank 上其它相应的等位基因间则有很大的核苷酸变异。从整个 SLA-3 基因的核苷酸变异来看, WZSP 近交系群体已经测序的 SLA-3 等位基因可分为两个等位基因组, 其中 L1R1-384 单独为一个等位基因组, 其它的可归为另外一个等位基因组。表明 WZSP 在 SLA-3 位点和其它猪品种有明显的差异, 拥有其独特的遗传资源。从分子水平为 WZSP SLA-3 基因的分型及特异单倍体猪的培育和异种器官移植实验用动物的研究提供理论依据。

## References

- [1] Vodicka P, Smetana K Jr, Dvorankova B, Emerick T, Xu Y Z, Ourednik J, Ourednik V, Motlik J. The miniature pig as an animal model in biomedical research. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, 1049(1): 161-171.
- [2] Li H. A survey of swine leukocyte antigen. *Animal Biotechnology Bulletin*, 2004, 9(1): 251-256.
- [3] 唐 军, 陈福祥, 李宁丽, 王 颖, 沈伯华, 周 洪, 周光炎. 中国版纳猪 MHC I 类 P1 分子全长的原核表达和纯化. *中国免疫学杂志*, 2002, 18: 264-267.  
Tang J, Chen F X, Li N L, Wang Y, Shen B H, Zhou H, Zhou G Y. Expression in *E. coli* of Chinese Banna pig SLA class I P1 protein and its purification. *Chinese Journal of Immunology*, 2002, 18: 264-267. (in Chinese)
- [4] Lunney J K, Pescovitz M D, Sachs D H. The swine major histocompatibility complex: its structure and function. *Swine in Biomedical Research*. New York: Plenum Press, 1986: 1821-1836.
- [5] Chardon P, Renard C, Vaiman M. The major histocompatibility complex in swine. *Immunological Reviews*, 1999, 167(2): 179-192.
- [6] Chardon P, Renard C, Rogel-Gaillard C, Vaiman M. The porcine major histocompatibility complex and related paralogous regions: a review. *Genetics Selection Evolution*, 2000, 32(2): 109-128.
- [7] Renard C, Vaiman M, Chianikulchai N, Cattolico L, Robert C, Chardon P. Sequence of the pig major histocompatibility region containing the classical class I genes. *Immunogenetics*, 2001, 53: 490-500.
- [8] 李 华, 罗怀荣, 张亚平, 邱祥聘, 叶 春. SLA 的分型与检测. *遗传*, 2004, 26: 211-214.  
Li H, Luo H R, Zhang Y P, Qiu X P, Ye C. Detection and typing for swine leukocyte antigen. *Hereditas*, 2004, 26: 211-214. (in Chinese)
- [9] Singer D S, Ehrlich R, Satz L, Frels W, Bluestone J, Hodes R, Rudikoff S. Structure and expression of class I MHC genes in the



- miniature swine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1987, 17(1-4): 211-221.
- [10] Chen F X, Tang J, Li N L. Novel SLA class I alleles of Chinese pig strains and their significance in xenotransplantation. *Cell Research*, 2003, 13: 285-294.
- [11] Mallard B A, Wilkie B N, Kennedy B W. Influence of major histocompatibility genes on serum hemolytic complement activity in miniature swine. *American Journal of Veterinary Research*, 1989, 50: 359-363.
- [12] 冯书堂, 褚武军, 王雅春, 王端云. 中国五指山猪. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- Feng S T, Chu W J, Wang Y C, Wang D Y. *Chinese Wuzhishan Pig*. Beijing: China Agricultural Sciencetech Press, 1999. (in Chinese)
- [13] Parham P, Lomen C E, Lawlor D A, Ways P, Holmes N, Coppin H L, Salter R D, Wan A M, Ennis P D. Nature of polymorphism in HLA-A,-B and-C molecules. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 1988, 85: 4005-4009.
- [14] Ando A, Kawata H, Shigenari A, Anzai T, Ota M, Katsuyama Y, Sada M, Goto R, Takeshima S, Aida Y, Iwanaga T, Fujimura N, Suzuki Y, Gojobori T, Inoko H. Genetic polymorphism of the swine major histocompatibility complex (SLA) class I genes, SLA-1, -2 and -3. *Immunogenetics*, 2003, 55: 583-593.
- [15] 邹雄, 张利宁. 分子免疫学与临床. 济南: 山东科学技术出版社, 2003, 5: 63-79.
- Zou X, Zhang L N. *Molecular Immunology and Clinical*. Jinan: Shandong Science Technology Press, 2003, 5: 63-79. (in Chinese)
- [16] Smith D M, Lunney J K, Martens G W, Ando A, Lee J H, Ho C S, Schook L, Renard C, Chardon P. Nomenclature for factors of the SLA class-I system, 2004. *Tissue Antigens*, 2005, 65: 136-149.
- [17] Velten F W, Renard C, Rogel-Gaillard C, Vaiman M, Chardon P. Spatial arrangement of pig MHC class I sequences. *Immunogenetics*, 1999, 49(11-12): 919-930.
- [18] Hansen J A, Yamamoto K, Petersdorf E, Sasazuki T. The role of HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Reviews in Immunogenetics*, 1999, 1: 359-373.
- [19] Suzuki Y, Gojobori T. A method for detecting positive selection at single amino acid sites. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16: 1315-1328.
- [20] Suzuki Y, Gojobori T, Nei M. ADAPTSITE: detecting natural selection at single amino acid sites. *Bioinformatics*, 2001, 17: 660-661.
- [21] Candinas D, Bach F H, Hancock W W. Delayed xenograft rejection in complement-depleted T-cell-deficient rat recipients of guinea pig cardiac grafts. *Transplantation Proceedings*, 1996, 28(2): 678.
- [22] Lin Y, Soares M P, Sato K, Takigami K, Csizmadia E, Anrather J, Bach F H. Rejection of cardiac xenografts by CD4<sup>+</sup> or CD8<sup>+</sup> T cells. *The Journal of Immunology*, 1999, 162: 1206-1214.
- [23] Wu Q, Xiong P, Liu J Y, Feng S T, Gong F L, Chen S. The study of new SLA classical molecules in inbreeding Chinese Wuzhishan pig. *Transplantation Proceedings*, 2004, 36: 2483-2484.
- [24] 周光炎. 免疫学. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- Zhou G Y. *Immunology*. Beijing: People Sanitary Press, 2000. (in Chinese)
- [25] Ortaldo J R, Winkler-Pickett R, Willette-Brown J, Wange L R, Anderson S K, Palumbo G J, Mason L H, McVicar D W. Structure/function relationship of activating Ly-49D and inhibitory Ly-49G2 NK receptors. *The Journal of Immunology*, 1999, 165: 5269-5277.

(责任编辑 高雨)