

猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 多态性及其与仔猪腹泻的关联分析

杨巧丽¹, 孔晶晶¹, 赵生国^{1,2}, 刘丽霞¹, 王得武¹, 李峰松¹, 姜天团^{1,2}, 封阳^{1,2}, 滚双宝^{1,2*}

(1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070; 2. 甘肃省养猪工程技术研究中心, 兰州 730070)

摘要: 为探索 *SLA-DRA* 基因作为猪抗病育种分子标记的可能性, 本研究采用 PCR-SSCP 和克隆测序方法对大白、长白和杜洛克共 216 头猪的 *SLA-DRA* 基因外显子 2 进行了多态性研究, 分析了该基因与仔猪腹泻的关联性。结果, 在 *SLA-DRA* 外显子 2 上检出了 3 个等位基因和 6 种基因型; 6 种基因型(AA、AB、BB、AC、BC 和 CC) 在大白猪和长白猪中都存在, 而在杜洛克猪中只检出 4 种基因型(AA、BB、AB 和 BC)。杜洛克猪与大白猪和长白猪间基因型分布均差异极显著($P < 0.01$); 3 个品种的基因型分布均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P > 0.05$)。最小二乘法分析表明, 品种和性别对仔猪腹泻影响不显著($P > 0.05$), 基因型与仔猪腹泻显著相关($P < 0.05$); AA 和 BB 基因型个体腹泻评分的最小二乘均值均显著高于 AC 和 CC 基因型个体($P < 0.05$)。本研究表明, *SLA-DRA* 基因不同基因型对仔猪腹泻有着重要的影响, 可作为猪抗病育种应用中的一个潜在遗传标记。

关键词: 猪; *SLA-DRA* 基因; 多态性; 仔猪腹泻; 关联分析

中图分类号: S828; Q343.15

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)07-1020-08

Polymorphism of *SLA-DRA* Gene Exon 2 and Its Correlation with Piglet Diarrhea

YANG Qiao-li¹, KONG Jing-jing¹, ZHAO Sheng-guo^{1,2}, LIU Li-xia¹, WANG De-wu¹, LI Feng-song¹,
JIANG Tian-tuan^{1,2}, FENG Yang^{1,2}, GUN Shuang-bao^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;
2. Gansu Research Center for Swine Production Engineering and Technology, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to explore the possibility using *SLA-DRA* gene as genetic marker of disease resistance, the correlation between polymorphism of *SLA-DRA* gene exon 2 and piglets diarrhea were detected in 216 piglets from Landrace, Large White and Duroc pigs by PCR-SSCP and sequencing. Three alleles and six genotypes were detected in the *SLA-DRA* gene exon 2. Six genotypes (AA, AB, BB, BC, AC and CC) were both found in Landrace and Large White pigs, but only four genotypes (AA, AB, BB and BC) were detected in the Duroc pigs. The genotype distribution was significantly different among Duroc and other two pig breeds (Landrace and Large White pigs) ($P < 0.01$). The genotype distributions of three breeds were all in the Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). The least square analysis indicated that genotype significantly affected the diarrhea of piglets ($P < 0.05$), but the breed and gender showed no significant influence ($P > 0.05$) on the diarrhea of piglets. The piglet diarrhea score of individuals with genotype AA and BB were significantly higher than that of individuals with genotype AC and CC ($P < 0.05$). Therefore, it can be concluded that genotypes of *SLA-DRA* gene had significant influence on piglet diarrhea, and which might be a potential genetic marker in swine breeding.

收稿日期: 2011-11-23

基金项目: DQA 和 DRA 基因与仔猪腹泻死亡的分子标记技术(GNSW-2008-04); 高繁殖力猪新品系选育研究(092NKDA036); 甘肃省优质猪肉生产配套技术与示范项目(0804NKCA065)

作者简介: 杨巧丽(1987-), 女, 甘肃华池人, 硕士, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: yangql1987@163.com

* 通讯作者: 滚双宝, E-mail: gunsb@gsau.edu.cn

Key words: pig; *SLA-DRA* gene; polymorphism; piglet diarrhea; correlation analyze

主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)是表达于脊椎动物有核细胞表面的一类高度多态并紧密连锁的基因群,编码细胞表面特异性蛋白,在抗原的识别与递呈、免疫应答与调控等方面发挥着非常重要的作用,与家畜疾病的抗性和易感性有着密切的关系^[1-2]。猪的 MHC 即猪白细胞抗原(Swine lymphocyte antigen, SLA),位于第 7 号染色体上,由 I 类、II 类和 III 类基因组成,其中 II 类基因主要包括 DRA、DRB、DQA、DQB、DPA、TAP 和 LMP 等亚区。*SLA-DRA* 基因作为 MHC 多态性丰富的 DR 亚区的 1 个功能基因,其编码的产物与抗原肽结合产生有效免疫应答。*SLA-DRA* 基因外显子 2 编码重要的功能区——抗原结合位点(Antigen binding site, ABS),它的多态性直接与功能相关,主要反映在动物对疾病的免疫力差异方面。目前对 *SLA* 基因多态性的研究主要集中在 *SLA-DQB*、*DRB* 和 *DQA* 基因第 2 外显子上^[3-5],而有关 *SLA-DRA* 基因多态性的研究结果不尽一致。Sachs 等^[6]对 NIH 小型猪基因组 DNA 的研究表明 *SLA-DRA* 基因是单态的,Chardon 等^[7]也报道认为 *SLA-DRA* 基因是一个单态基因;而 Nielsen 等^[8]用限制酶 *Pvu* II 对 *SLA-DRA* 基因进行 RFLP 分析,发现 *SLA-DRA* 基因座位存在多态性,刘榜等^[9]通过对瑞典长白猪、丹麦长白猪和通城猪核苷酸序列测定发现了 1 个新的 *SLA-DRA* 等位基因,Wu 等^[10]和孙俊丽等^[11]也先后报道在五指山猪近交系中存在 *SLA-DRA* 等位基因。

仔猪腹泻困扰着世界养猪业,给养猪生产带来了严重的经济损失。疾病的发生通常是遗传与环境因素共同作用的结果。在仔猪腹泻发生的过程中,个体对环境致病因子的抗性(或易感性)亦可能起着重要作用,而这种抗性(或易感性)的遗传基础是基

因组的结构差异或表达差异。*MHC* 作为家畜疾病抗性和易感性的候选标记基因,其多态性与各种畜禽的遗传抗病性的关系现已成为抗病育种研究的一个重要部分^[12]。目前已有 *MHC* 与奶牛乳房炎、口蹄疫,绵羊的线虫病、包虫病,鸡的马立克氏病和劳氏肉瘤病等疾病的抗性或易感性的相关性研究报道^[13-17]。Wimmers 等^[18]研究表明,猪的 *MHC* 遗传多态性与猪的抗病能力有关,但具体到 *MHC* 基因多态性与仔猪腹泻的关联分析方面的研究尚未见报道。

本研究以 3 个引入的瘦肉型品种猪(大白猪、长白猪和杜洛克猪)为研究对象,采用 PCR-SSCP 和克隆测序方法检测 *SLA-DRA* 基因外显子 2 序列的单核苷酸多态性,并分析其多态性与仔猪腹泻的相关性,旨在为腹泻抗性品系培育的标记辅助选择提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甘肃临泽新华猪场大白、长白和杜洛克 3 个品种的哺乳仔猪共 216 头(其中每个品种腹泻和未腹泻仔猪各 36 头),试验仔猪均同期分娩且系谱清楚、饲养条件相同。采集猪的耳组织样,置于盛有 75% 酒精的 5 mL EP 管中,−20 °C 保存。酚-氯仿法提取基因组 DNA^[19],TE 溶解,用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法双重检测 DNA 的纯度和浓度,然后稀释成终浓度 100 ng · μL^{−1} 备用。在仔猪哺乳期每天观察排粪情况,上午、傍晚逐头检查仔猪的肛门有无粪便污染和红肿,并检查栏内仔猪粪便形状,按正常、轻微腹泻、中度腹泻和严重腹泻分别记录。仔猪腹泻评分标准^[20]见表 1。

表 1 仔猪腹泻评分标准

Table 1 Grading criterion about piglet diarrhea

腹泻程度 Diarrhea level	粪便外观描述 Visual description of feces	腹泻评分 Diarrhea score
正常 The normal	条状或粒状	0
轻微腹泻 The slight diarrhea	成形、软便	1
中度腹泻 The moderate diarrhea	稠状、粪水无分离现象、稀便	2
严重腹泻 The serious diarrhea	液体、不成形、粪水分离	3

1.2 引物设计和 PCR 扩增

根据 GenBank 中的 *SLA-DRA* 基因序列 (AY303990)^[21], 用 Primer 5.0 软件设计 *SLA-DRA* 基因外显子 2 扩增引物, 预期扩增片段 257 bp, 引物由大连宝生物公司合成。引物序列: F: 5'-CA-GAGAATCACGTGATCAT-3'; R: 5'-ACAGG-TACCATTGGTGT-3'。

PCR 反应总体积 25 μL , 其中 ddH₂O 18.25 μL , 10 \times PCR Buffer (含 Mg²⁺) 2.5 μL , dNTPs (2.5 mmol \cdot L⁻¹) 1.0 μL , 上下游引物 (10 pmol \cdot μL^{-1}) 各 1 μL , *Taq* DNA 聚合酶 (5 U \cdot μL^{-1}) 0.25 μL , 模板 DNA 100 ng。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 共 30 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 产物用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3 PCR 产物的 SSCP 检测

取 2 μL 的 PCR 产物, 加入 8 μL 的变性上样缓冲液 (98% 去离子甲酰胺、0.025% 溴酚蓝、0.025% 二甲苯青、10 mmol \cdot L⁻¹ EDTA), 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 迅速冰浴 10 min 后上样于充分遇冷的 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶 (Acr : Bis = 29 : 1) 上。在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 300 V 电泳 30 min, 200 V 电泳 20 h, 电泳结束后银染法显带。

1.4 克隆测序

用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收不同基因型个体的 PCR 产物, 回收产物用 pMD[®]19-T Vector 载体连接, 并转化入大肠杆菌 (*Escherichia coli*)

DH5 α 菌株; 筛选阳性克隆培养, 培养后进行菌液 PCR 扩增; 以初始 PCR 产物为标准物, 菌液 PCR 产物与标准物同时进行 SSCP 检测, 每一种基因型挑选 2 个克隆的菌液送生工生物工程(上海)有限公司测序。

1.5 统计分析

运用 PopGene 32 软件计算基因型频率、等位基因频率、纯合度 (H_o)、杂合度 (H_e) 和有效等位基因数 (N_e), 并进行品种内基因型分布的 Hardy-Weinberg 平衡检验; 采用 PIC 软件计算多态信息含量 (PIC); 用卡方独立性检验分析基因型在品种间的分布, 并配合下列模型进行最小二乘方差分析, 比较仔猪腹泻评分在不同基因型之间的差异, 用 SPSS 18.0 的 GLM (General Linear Model) 过程完成。统计模型为:

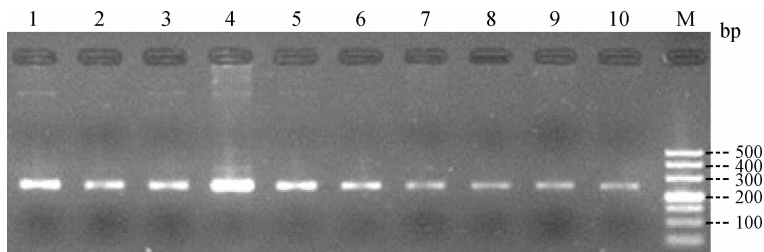
$$Y_{ijk} = \mu + B_i + G_j + Sex_k + e_{ijk}$$

其中, Y_{ijk} 为仔猪腹泻表型值; μ 为群体均值; B_i 为第 i 个品种的固定效应; G_j 为第 j 种基因型的固定效应; Sex_k 为第 k 种性别的固定效应; e 为随机残差效应。

2 结果

2.1 PCR 扩增及 SSCP 检测

PCR 扩增产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 得到的扩增条带清晰且特异性较好, 大小约 257 bp (图 1), 与目的片段大小一致。



1~10. PCR 扩增产物; M. DNA 相对分子质量标准 DL 500

1-10. PCR products; M. DL 500 DNA marker

图 1 *SLA-DRA* 基因外显子 2 的 PCR 产物检测

Fig. 1 Detection of PCR products of the *SLA-DRA* gene exon 2

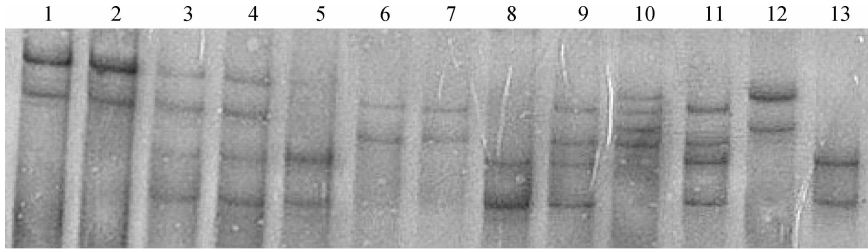
经 SSCP 检测, *SLA-DRA* 基因外显子 2 存在 3 个等位基因 (A、B、C) 和 6 种基因型 (AA、AB、BB、BC、AC、CC, 图 2)。

2.2 序列分析与比较

选取不同基因型个体的 PCR 产物各 2 个进行

克隆、测序。结果如图 3 所示, A 等位基因的序列与 AY303990 相同; B 等位基因在 AY303990 的第 3 093 bp 处发生 A/C 颠换, 导致氨基酸由甲硫氨酸 (Met) 变为亮氨酸 (Leu); C 等位基因在第 3 093 和 3 104 bp 处分别发生 A/C 颠换和 C/T 转换, 其中

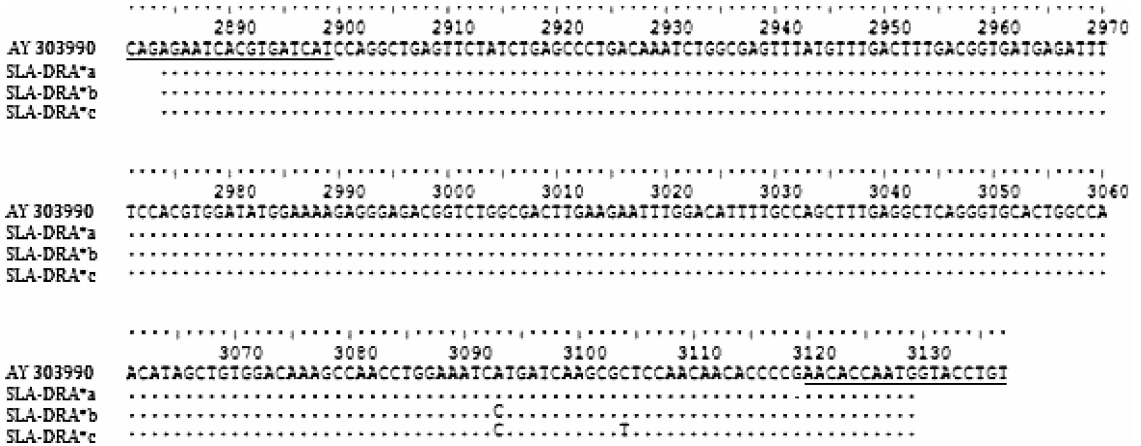
C/T 转换未引起氨基酸的改变,为同义突变。



1,2,12. AA 基因型;3,4. AB 基因型;5,8,13. BB 基因型;6,7. CC 基因型;9,11. BC 基因型;10. AC 基因型
1, 2, 12. Genotype AA; 3, 4. Genotype AB; 5, 8, 13. Genotype BB; 6, 7. Genotype CC; 9, 11. Genotype BC;
10. Genotype AC

图 2 *SLA-DRA* 基因外显子 2 的 PCR-SSCP 检测

Fig. 2 Detection of the *SLA-DRA* exon 2 by PCR-SSCP



- 代表相同的核苷酸,划线部分为引物序列
- The identical nucleotides and the underlined parts stand for primer sequences

图 3 猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 不同等位基因序列比较

Fig. 3 Alignment of different alleles sequences of the pig *SLA-DRA* exon 2

2.3 *SLA-DRA* 基因外显子 2 的基因型频率和等位基因频率在不同品种间的分布

3 个品种猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 的基因型频率、等位基因频率及卡方适合性检验结果见表 2。在发现的 6 种基因型中,AA、BB、AB 和 BC 基因型为 3 个品种猪的共有基因型,AC 和 CC 基因型在杜洛克猪中未检测到。AB 基因型为大白猪和杜洛克猪的优势基因型,BB 基因型为长白猪的优势基因型;3 个品种的 A 和 B 等位基因频率均明显高于 C, B 为大白猪和长白猪的优势等位基因;A 为杜洛克猪的优势等位基因。经卡方适合性检验,*SLA-DRA* 基因外显子 2 在 3 个品种中的 χ^2 值均低于显著水平 ($P > 0.05$),处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。

χ^2 独立性检验结果表明(表 3),大白猪与长白

猪间基因型分布表现为差异不显著 ($P > 0.05$),杜洛克猪与大白猪、长白猪间基因型分布均表现为差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.4 *SLA-DRA* 基因外显子 2 的遗传多态性分析

遗传杂合度 (H_e)、有效等位基因数 (N_e) 和多态信息含量 (PIC) 是评价群体遗传变异的重要指标,不同的遗传参数体现各群体的遗传差异性。由表 4 可知,大白猪的杂合度最高,为 0.61,表示其遗传多样性最丰富,遗传变异程度最高;杜洛克猪的杂合度最低,为 0.52,其遗传变异程度最小。多态信息含量 (PIC) 是衡量标记多态性较好的指标。根据 Vaiman 等^[22] 的研究结论,3 个品种猪的 PIC 均大于 0.25,其中大白猪最高为 0.53 表现为高度多态,长白猪和杜洛克猪均为中度多态。

表 2 3 个品种猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 的基因型频率和等位基因频率

Table 2 Allele frequency and genotype frequency of *SLA-DRA* exon 2 in three different pig breeds

品种 Breed	数量 Number	基因型频率 Genotype frequency						等位基因频率 Allele frequency			χ^2 值 χ^2 value
		AA	BB	AB	BC	AC	CC	A	B	C	
大白 Large White	72	0.14(9)	0.26(19)	0.33(24)	0.17(12)	0.06(5)	0.04(3)	0.33	0.51	0.16	2.00
长白 Landrace	72	0.07(6)	0.38(27)	0.33(24)	0.14(10)	0.07(4)	0.01(1)	0.28	0.61	0.11	0.16
杜洛克 Duroc	72	0.21(15)	0.18(13)	0.57(41)	0.04(3)	0(0)	0(0)	0.49	0.49	0.02	5.45

括号内为检测个体数。 χ^2 值为对不同基因型分布的 Hardy-Weinberg 平衡检验值; $\chi^2_{0.05}(df=3)=7.81, P>0.05$

Numbers in brackets are population size tested. χ^2 value mean the test values of different genotypes to Hardy-Weinberg equilibrium; $\chi^2_{0.05}(df=3)=7.81, P>0.05$

表 3 3 个猪种 *SLA-DRA* 基因外显子 2 基因型分布的独立性检验

Table 3 The independent test of genotypes distribution of the *SLA-DRA* exon 2 in three different pig breeds

品种 Breed	大白 Large White	长白 Landrace
长白 Landrace	3.28	
杜洛克 Duroc	20.47**	21.97**

标有**上标的数值表示所在行列的两品种之间差异极显著 ($P<0.01$)

Values with ** superscripts at the cross of two breeds represents the two breeds differ significantly ($P<0.01$)

表 4 3 个品种猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 遗传多态性分析

Table 4 The genetic polymorphisms of *SLA-DRA* exon 2 in three different pig breeds

品种 Breed	纯合度 H_o	杂合度 H_e	有效等位基因数 N_e	多态信息含量 PIC
大白 Large White	0.39	0.61	2.52	0.53
长白 Landrace	0.46	0.54	2.16	0.47
杜洛克 Duroc	0.48	0.52	2.08	0.40

表 5 *SLA-DRA* 基因外显子 2 多态性与仔猪腹泻的关联性

Table 5 Correlation of polymorphism of *SLA-DRA* gene exon 2 with piglet diarrhea

因素 Factor	品种效应 Breed effective	基因型效应 Genotype effective	性别效应 Sex effective
P	0.94	0.04*	0.42

*. $0.01 < P < 0.05$

3 讨论

3.1 *SLA-DRA* 基因外显子 2 多态性及群体遗传分析

MHC 的变异可反映基因组水平的变异^[23], 因

2.5 *SLA-DRA* 基因外显子 2 多态性与仔猪腹泻评分的关联分析

根据品种、基因型及性别固定效应对仔猪腹泻的影响, 经最小二乘法分析, 结果显示(表 5), 基因型与仔猪腹泻显著相关 ($P < 0.05$), 而品种和性别对仔猪腹泻影响不显著 ($P > 0.05$)。不同基因型与仔猪腹泻评分的最小二乘均值结果如表 6 所示, AA 和 BB 基因型个体腹泻评分的最小二乘均值均显著高于 AC 和 CC 基因型个体 ($P < 0.05$); AB 和 BC 基因型个体腹泻评分的最小二乘均值与各基因型个体间均差异不显著 ($P > 0.05$)。

此通过 MHC 基因的变异分析, 可有效地评估种群遗传多样性水平。同时, MHC 的变异水平被认为是生物体识别外来寄生物(细菌、病毒、原生动物以及其他寄生虫和噬菌体)能力的重要组成部分。刘榜等^[9]通过 PCR 产物直接测序方法在瑞典长白猪、丹麦长白猪和通城猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 区检

测到 1 个 C/A 碱基颠换并提交为 *SLA-DRA* 的新等位基因。本研究在该基因外显子 2 区发现了 A/C 和 C/T 2 个突变位点,形成 3 种等位基因,其中 A/C 颠换导致了氨基酸序列的改变,属于错义突变,而 C/T 转换并不影响编码该基因蛋白质的氨基酸序列。本研究检测的 A/C 突变位置与刘榜等^[9]报道的 *SLA-DRA* 新等位基因突变位点(C/A)位置相同,这可能

与所作比对的参考序列不同有关。本研究仅发现了 2 个 SNPs 位点,说明该基因具有很强的保守性,这与孙俊丽等^[11]的研究结果一致,这种保守性可能是由 *SLA-DRA* 基因在动物机体担任的重要功能决定的,以调节机体的免疫力,其保守性是对自身进化的一种保护。

表 6 不同基因型仔猪腹泻评分的最小二乘均值及标准误

Table 6 The least square means and standard errors of piglet diarrhea score among the genotypes

基因型 Genotype	样本数 Samples size	最小二乘均值±标准误 Least square means±standard errors
AA	30	1.10 ± 0.19 ^a
BB	59	1.05 ± 0.14 ^a
AB	89	0.83 ± 0.21 ^{ab}
BC	25	0.85 ± 0.21 ^{ab}
AC	9	0.32 ± 0.25 ^b
CC	4	0.06 ± 0.12 ^b

具有不同字母肩标的平均值间差异显著($P < 0.05$)

Least squares mean with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

本研究检测到的多态位点导致试验群体形成了 6 种基因型,其中基因型 AA、AB、BB 和 BC 在 3 个品种猪中都有分布,而 AC 和 CC 基因型在杜洛克猪群体中未检测到,这种基因型分布的差异可能是由于杜洛克猪不同于大白猪和长白猪的遗传特性,AC 和 CC 基因型为杜洛克猪的不利基因型,在长期自然选择或人工选择过程中被淘汰。经卡方检验,大白猪与长白猪间基因型分布差异不显著,说明大白猪与长白猪品种之间在分子水平上存在一定的遗传相似性;而杜洛克猪与大白猪和长白猪间基因型分布均差异极显著,这进一步证实了其品种间遗传特性的差异,由于品种间遗传背景本身存在较大的差异,在选育过程中不同等位基因的间接选择压力不同,遗传变异程度不同。3 个品种仔猪群体基因型分布均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,这说明这 3 个品种猪在长期的人工选择过程中所受压力较小,未对 *SLA-DRA* 基因产生影响。

多态信息含量(PIC)、杂合度(*He*)和有效等位基因数(*Ne*)都可用来度量群体内遗传变异,其值的高低反映了群体内个体的均质度,其数值越高,说明遗传变异性就越大,对环境的适应能力越强,具有较大的选择潜力,应用于遗传育种效果越好。本研究

发现大白猪的 *He*、*Ne* 和 *PIC* 均最高,而杜洛克猪最低;多态信息含量(*PIC*)分析显示,大白猪表现为高度多态,长白猪和杜洛克猪均为中度多态。这说明大白猪的遗传多样性最丰富,其对环境的适应能力较强,而杜洛克猪的遗传变异程度小,该品种的遗传一致性较好。遗传多态性指标分析反映了这 3 个群体都具有较丰富的遗传多态性,变异程度较高,遗传潜力大,因此在品种选育过程中可加强人工选择的强度。

3.2 *SLA-DRA* 基因多态性与仔猪腹泻的关联分析

外显子区单碱基突变导致氨基酸变化可能影响其功能。对 *SLA-DRA* 基因功能区多态性的检测有助于分析碱基突变对该基因功能的影响。本研究序列分析结果发现,*SLA-DRA* 基因外显子 2 区的 A/C 突变为错义突变,导致了甲硫氨酸变为亮氨酸,C/T 突变为同义突变。根据 Kimchi-Sarfaty 等^[24]的研究结果,虽然同义突变不影响编码的氨基酸序列,但改变了 mRNA 的碱基顺序,会对 mRNA 本身的翻译速度和寿命造成影响,进而改变蛋白质的表达量,甚至可能会导致蛋白质的空间结构发生改变,从而影响其正常功能。因此,本研究在 *SLA-DRA* 基因外显子 2 发现的碱基突变亦可能引起其

蛋白结构和表达量的变化,影响宿主对病原体的特异性识别,导致对疾病抗性(或易感性)发生变化,从而影响仔猪腹泻。

由核苷酸发生替换而形成的多态性有利于 SLA 分子与多种抗原肽的结合,诱发机体的免疫反应。Wimmers 等^[18]研究表明,SLA 基因的遗传多态性与猪的抗病能力有关。Renard 和 Vaiman 也研究发现腹泻造成的断奶前死亡率与 SLA 的单倍型类型有关^[25]。在国内尚未见有关 SLA 基因与猪疾病相关性的研究报道。高树新等^[26]通过对中国西门塔尔牛、三河牛的 *BoLA-DRA* 基因外显子 2 多态性与乳房炎关系进行研究,结果表明其多态性与奶牛的乳房炎存在一定的相关性。本研究通过对 *SLA-DRA* 基因多态性与仔猪腹泻的关联性分析显示,*SLA-DRA* 基因不同基因型与仔猪腹泻存在着显著相关性,AA 和 BB 基因型个体腹泻评分的最小二乘均值均显著高于 AC 和 CC 基因型个体。结合基因突变对蛋白质结构和功能的影响,认为 *SLA-DRA* 基因外显子 2 可作为猪抗病育种的 1 个潜在遗传标记位点。

4 结 论

本研究在 *SLA-DRA* 基因外显子 2 检测到 2 个突变位点,不同基因型之间仔猪腹泻存在较大差异,可作为对猪抗病力选育的一个辅助性遗传标记。此研究结果为猪抗病育种的标记辅助选择提供了理论依据。

参考文献:

- [1] SAMMUT B, MARCUZ A, PASQUIER L D. The fate of duplicated major histocompatibility complex class I α genes in a dodecaploid amphibian, *Xenopus ruwenzoriensis* [J]. *Eur J Immunol*, 2002, 32(6): 1593-1604.
- [2] TAKESHIMA S, AIDA Y. Structure function and disease susceptibility of the bovine major histocompatibility complex [J]. *J Anim Sci*, 2006, 77(2): 138-150.
- [3] TAN Y S, ZHOU B, WANG L Y. Analysis of polymorphism on exon 2 of *SLA-DRB* in Wuzhishan, Erhualian and Pietrain pigs with PCR-RFLP and PCR-SSCP [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(2): 163-169.
- [4] LI H, ZHANG Y P, QIU X P. The genetic diversity of the second exon about *SLA-DQB* in some Chinese native pigs [J]. *Yi Chuan*, 2005, 27(2): 173-180.
- [5] 于 辉, 李建东. 三品种外种猪 *SLA-DQA* 基因的 PCR-RFLP 分析 [J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(9): 14-17.
- [6] SACHS D H, GERMANA S, EI-GAMIL M, et al. Class II genes of miniature swine [J]. *Immunogenetics*, 1988, 28(1): 22-29.
- [7] CHARDON P, RENARD C, VAIMAN M. The major histocompatibility complex in swine [J]. *Immunol Rev*, 1999, 167(1): 179-192.
- [8] NIELSEN V H, THOMSEN B. *Puv* II RFLPs at SLA class II loci: DQA and DRA [J]. *Anim Genet*, 1997, 28(2): 151-152.
- [9] 刘 榜, 杨金娥, 樊 斌, 等. 一个新的猪 *SLA-DRA* 等位基因的分离与分析 [J]. *农业生物技术学报*, 2004, 12(2): 228-229.
- [10] WU Q, XIONG P, LIU J Y, et al. The study of new SLA classical molecules in inbreeding Chinese Wuzhishan pig [J]. *Transplant Proc*, 2004, 36(8): 2483-2484.
- [11] 孙俊丽, 牟玉莲, 顾茂松, 等. 五指山猪近交系群体中 *DRA* 和 *DRB* 基因的 SSCP 检测 [J]. *安徽农业科学*, 2005, 33(8): 1458-1461.
- [12] BALLINGALL K T, FARDOE K, MCKEEVER D J. Genomic organisation and allelic diversity within coding and non-coding regions of the *Ovar-DRB1* locus [J]. *Immunogenetics*, 2008, 60(2): 95-103.
- [13] RUPP R, HERNANDE Z A, MALLARD B A. Association of bovine leukocyte antigen (*BoLA*) *DRB3. 2* with immune response, mastitis and production and type traits in Canadian Holsteins [J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90(2): 1029-1038.
- [14] SAYERS G G, HANRAHAN B, RYAN J P, et al. Major histocompatibility complex *DRB1* gene; its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds [J]. *Parasitology*, 2005, 131(3): 403-409.
- [15] HAERI M, READ L R, WILKIE B N, et al. Identification of peptides associated with chicken major histocompatibility complex class II molecules of B21 and B19 haplotypes [J]. *Immunogenetics*, 2005, 56(11): 854-859.
- [16] ANDREA H, JIRI P, LAWRENCE H, et al. V-src oncogene specific carboxy-terminal peptide is immunoprotective against Rous sarcoma growth in chickens with MHC class I allele *B-F 12* [J]. *Vaccine*, 2003, 21(32): 4694-4699.
- [17] 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]. *中国人畜共患病学报*, 2007, 23(10): 1004-1012.

- [18] WIMMERS K, SCHELLANDER K, PONSUKSILI S. BF, HP, DQB and DRB are associated with haemolytic complement activity, acute phase protein reaction and antibody response in the pig [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2004, 99(3-4): 215-228.
- [19] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. Molecular cloning; A laboratory manual [M]. 2nd. Beijing: Science Press, 1996: 464-467.
- [20] KELLY D J, BRIEN J O, MCCRACKEN K J. Effect of creep feeding on the incidence, duration and severity of post-weaning diarrhoea in pigs [J]. *Res Vet Sci*, 1990, 49(2): 223-228.
- [21] TAN Y S. Research on structure, function, expression and molecular biology typing of SLA-DQ and DR genes [D]. Jiangsu: Nanjing Agriculture University, 2003.
- [22] VAIMAN D, MECIER D, MOAZAMI-GOUDARZI K, et al. A set of 99 cattle microsatellites; characterization, synteny mapping, and polymorphism [J]. *Mamm Genome*, 1994, 5(5): 288-297.
- [23] YUHKI N, O' BRIEN S J. DNA variation of the mammalian major histocompatibility complex reflects genomic diversity and population history [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1990, 87: 836-840.
- [24] KIMCHI-SARFATY C, OH J M, KIM I W, et al. A "Silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity [J]. *Science*, 2007, 315(5811): 525-528.
- [25] RENARD C, VAIMAN M. Possible relationships between SLA and porcine reproduction [J]. *Reprod Nutr*, 1989, 29(5): 569-576.
- [26] 高树新, 许尚忠, 高雪, 等. 两种兼用型牛 BoLA-DRA exon 2 多态性及其与乳房炎的关联分析 [J]. *华北农学报*, 2006, 23(1): 211-213.

(编辑 郭云雁)