



小型猪近交系新品种的培育与开发利用

冯书堂* 李奎 刘岚 高倩 程英 牟玉莲*

中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所基因与细胞工程室 100193

* 通讯作者, fst508@sina.com; Muyulian76@iascaas.net.cn

摘要 小型猪近交系是中国农业科学院北京畜牧兽医研究所2头五指山猪(*Sus scrofa*)为系祖,历时15年,采用“近亲交配”、提高营养水平、同期发情以及笼架等饲养技术,逐步克服后代畸形率高、弱仔率高、成活率低等3大阶段性难题,育成国际上首个近交系猪。本文介绍小型猪近交系的培育过程、近交系研究鉴定、新遗传资源种质特性,以及开发利用。该研究成果填补了国内外近交系猪的研究空白,为大型哺乳近交系动物培育理论和应用研究提供了新的视角。

关键词 五指山猪,近交系,基因组

Cultivation and Application of Miniature Pig (*Sus scrofa*) Inbred

FENG Shu-Tang* LI Kui LIU-Lan GAO-Qian CHENG-Ying MU Yu-Lian*

Gene and Cell Engineering Department, Institute of Animal science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

* Corresponding authors, fst508@sina.com; Muyulian76@iascaas.net.cn

Abstract Research results of miniature pig inbred cultivation and application, which were achieved by the scientists from Institute of Animal Sciences of Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS). By comprehensive measures of "inbreeding", improving the level of nutrition, estrus synchronization, and cage rearing technology et al., which lasted 15 years, they bred international's first inbred pigs with two Wuzhishan mini-pig(WZSP) (*Sus scrofa*) as progenitor, gradually overcame three stages problems as high offspring malformation rate, high weakling piglet rate and low survival rate. This article describes the breeding process, inbred line identification, germplasm characteristics of the new genetic resources, and their development and utilization et al. The results fill the gaps for pig inbred line in domestic and foreign research, and provide a new vision for animal inbreeding theory and applied research in large mammals inbred line.

Keywords Wuzhishan miniature pig, Inbreed line, Genome

近交系动物是特殊的动物遗传资源,具有很高的使用价值和研究意义,是生命科学研究创新的基础和引领。国际上已培育和利用了450多种近交系小鼠(Jon et al., 2000),其作为较佳的模式动物,已广泛应用于解决人类疑难病症、攻克生命科学和

医学、药学难题等研究领域。近期报道的许多生物医学界诺贝尔奖获得者,几乎都是以近交系小鼠为材料取得重大研究成果,如免疫耐受性研究(Peter et al., 1960),单克隆抗体发展(Köhler, Milstein, 1975)、主要组织相容性复合体(major histocompati-

基金项目:农业部行业攻关项目(畜牧重点专项-08、85-牧-07-03、95牧-02-08-03)、科技部社会公益项目(No. 2001DIA40036)、科技基础性工作和社会公益研究专项(No. 2003DEB6J078)、国家高技术研究发展计划(863)项目(No. 2003AA215103)、国家自然科学基金重点项目(No. 39830190)、国家自然科学基金重大项目(No. 39993430)、科技部"十五"攻关项目(No. 2004BA717B-01、02)、国家高技术研究发展计划(863)项目(No. 2012AA020603)和北京市科委应用基础研究与战略高技术项目(No. D0708200720701)

收稿日期:2014-09-18 接受日期:2014-10-24

bility complex, MHC)研究(Klelin, 1975)等。猪和鼠相比与人类有更大的相似性,在解决人类疑难病症、攻克生命科学和医学、药学难题等研究,尤其是在将来的人类异种器官移植研究和应用中将发挥不可替代的作用。五指山小型猪近交系培育始于20世纪80年代末,以1公1母五指山猪为祖系,连续采用“仔配母”、“全同胞”交配等综合措施,当时已经历了15年之久,逐步克服近交繁育导致的繁殖成活率极低(不足20%)的缺点,组建了 F_{13} ~ F_{17} 近交群体和系谱,并利用分子遗传手段、DNA指纹图相似系数、微卫星等多种先进技术手段,监测了该近交群种 F_7 ~ F_{16} 的培育研究过程,初步揭示近交系小型猪遗传规律和特点(冯书堂, 2007, 2011)。

中国研究人员通过15年培育研究,利用中国特殊的小型猪资源已获得 F_{17} ,近交系数已达0.974,近交系培育关键技术研究取得了重大进展,尤其是已跨越近交繁殖导致仔猪死亡高发阶段,在国内外产生了一定影响。如美国、意大利、日本、西德、韩国等纷纷要求引种或合作研究。

本文介绍小型猪近交系培育过程、近交系研究鉴定、新遗传资源的种质特性和开发利用。该小型猪近交系研究成果的成功培育填补了国内外该领域的研究空白,揭示了大型哺乳动物近交系猪分子遗传学规律,为大型哺乳动物近交系动物培育理论和应用研究提供了新的视角。

1 小型猪近交系新品种培育过程

由于近交系猪在国际上尚未有培育成功的报道,更无近交系建系标准和鉴定方法。因此,近交系猪的培育必须严格遵循近交系小鼠的培育方法进行(Cbtjden, 1949; Bell et al., 1955; Bowman, Falconer, 1960; Davisson, 1996)。

1.1 同一世祖2头猪近亲繁育20代以上,并建立完整系谱

五指山小型猪(Wuzhishan mini-pig, WZSP)的培育初衷还要追溯到中国改革开放初期,作者1983~1984年在西德学习时,有幸参观西德哥廷根小型猪(Gottengen Miniature Pig)育种中心,了解到西方国家已将小型猪大量应用于人类疾病动物模型,同时小型猪又是猪胚胎工程极好的研究对象,哥廷根小型猪已销售到多个国家和地区。同期国内经历了大规模的家畜品种资源调查,发现了众多

特异性畜禽品种,WZSP就是其中一例,但已濒临灭绝。1987年为保护这一宝贵资源,在农业部有关司局资助下,购下仅有的8头纯种猪,在原通什农业专科学校定点保存和观测,但是由于种种困难WZSP难以维持下去;1989年,WZSP再次处于濒灭境地,随后将其中2头空运至北京进行研究。

WZSP是否具有小型特征是研究中面对的第一个问题,这也是关系到WZSP有无开发应用价值的关键问题。为解决这个问题,首先采取“自由采食、不限量”措施,两年后发现原引种猪胸围增大、但腿不增高,两年期间未打任何疫苗、未发生传染性疾病。WZSP确实表现出体型小、适应能力强的特征。异地保种遇到另一个问题是:母猪发情不排卵、配种困难,因此研究人员采用血清促性腺激素(pregnant mare serum gonadotropin, PMSG)+人体绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)外源激素处理等办法逐步解决,掌握了其饲繁规律,如成年猪每天饲喂2次、日粮每次0.5 kg左右、青年猪逐减、断奶仔猪自由采食,成猪、青年猪以及新生猪补射疫苗等均为相应普通猪计量的二分之一,发情适时配种两次。

异地保种成功后,研究人员在繁殖过程中发现WZSP具有较强的抗近交能力,因此树立了继续推进近交繁育的目标,按照实验动物近交系培育方式,推进五指山小型猪的近交繁育,同时制定了近交系培育技术路线(图1),即:①近交繁育;②近交验证;③特异等位基因的发掘;④矮小型分子机理;⑤与人相似性机理等。

近交繁育给猪繁殖力带来巨大不良影响,即仔猪畸形率高、弱仔率高、死亡率高、成活率低(不足20%)的“三高一低”现象。为解决这一难题,研究人员采用了提高其饲料蛋白质营养水平(由通常13%~15%,提高到16%~20%),加喂青饲料,定期户外放牧,增加运动等综合措施,逐步使仔猪成活率由 F_7 19.39% (12/34)、 F_{10} 35.39% (12/34), F_{12} 46.67% (21/45)提高到 F_{15} 66.67% (22/33),其“仔配母”、“全同胞”交配等综合技术措施获国家发明专利技术方法(ZL 02149030.9)。随后采用笼架结构产仔、加保温设施,极大地提高仔猪成活率,由 F_{16} 76.92%逐步提高到 F_{20} ~ F_{22} 90%以上。2013年获得近交系 F_{20} ~ F_{23} 基础母猪150余头(冯书堂, 2013. 农业部科技成果鉴定《小型猪近交系研究与鉴定》证书)。至此,研究人员遵循近交系小鼠的培育方法,完成同

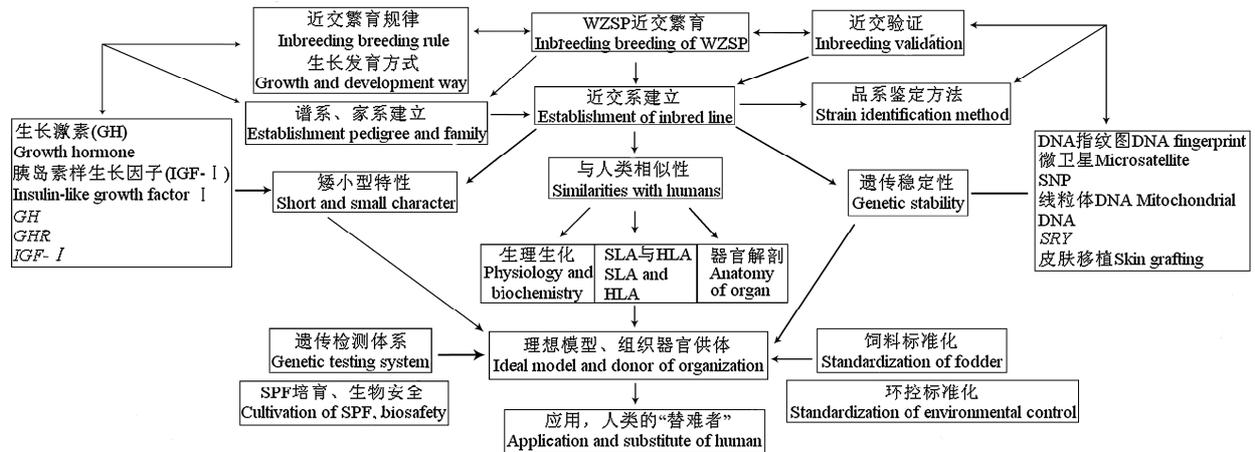


图1 近交系培育技术路线

Figure 1 Foster technical route of inbred line

SNP: 单核苷酸多态性; SRY: Y染色体性别决定区域; HLA: 人类白细胞抗原; SPF: 无特定病原体动物; SLA: 猪白细胞抗原
SNP: Single nucleotide polymorphisms; SRY: Sex-determining region on the Y Chromosome; HLA: Human leukocyte antigen; SPF: Specific pathogen free; SLA: Swine leukocyte antigen

一世祖2头猪近亲繁育20代以上,并建立完整系谱的培育过程。

1.2 近交系猪遗传稳定性检测

研究人员通过全基因组测序与分析发现,该近交系全基因组纯合度类似近交系鼠高达60%(Fang et al., 2012),而普通近交系动物仅能达到8%~11%(Cbtjden, 1949);利用猪高密度SNP芯片,对 F_{17} ~ F_{22} 共6个世代96个样品的基因型进行系统分析发现,分布于近交家系18对常染色体上的61 565个有效SNPs中, F_{20} 群体纯合率高达80.0%以上,而非近交系五指山猪相应位点几乎无一纯合(冯书堂, 2013. 农业部科技成果鉴定《小型猪近交系研究与鉴定》证书),因此该近交系猪遗传的稳定性增强。

上述研究结果与先前开展的微卫星、SNP等验证取得一致性结果(李凯等, 2009a; 2009b; 程文科等, 2012)。在3个家系 F_{13} ~ F_{18} 75头群体中,14个具有多态性微卫星位点,共检测到38个等位基因,平均等位基因数为2.71个,并随着近交代数的推进,其等位基因数越来越少,纯合度越来越高,遗传越来越稳定(表1)。在近交家系 F_{19} ~ F_{21} 53头个体中, F_{19} 、 F_{20} 和 F_{21} 群体分别检测到28、26和24个等位基因,平均每个位点仅有2.00、1.86和1.70个,其结果大大低于王希龙等(2006)和欧江涛(2004)分别采用30和32个微卫星基因座报道的海南五指山猪测定每个位点平均等位基因数,分别为9.4和13.66个,

表明该近交系具有非常稳定的分子遗传基础。

此外,与中国人民解放军总医院第一附属医院全军创伤修复重点实验室合作,开展了经典皮肤移植鉴定研究。结果发现,异体移植组与对照组自体皮肤移植后,二者伤面愈合、血运建立均处于良好状态;皮肤移植前后其外周血血浆中细胞因子IL-2、IL-4和IL-10,全血淋巴细胞中CD4+和CD8+细胞的百分比含量,以及CD4+/CD8+的比值含量变化趋于一致;异体皮肤移植组的HE和Masson染色结果与对照组也呈现相似结果;异体皮肤移植未发生免疫排斥反应。研究结果表明该近交系免疫抗原具有高度一致性,验证培育的近交系猪遗传稳定、基因高度纯合(付小兵等. 五指山猪近交系自体 and 异体皮肤移植实验研究报告, 2013-01)。

1.3 近交系猪的鉴定方法

利用蛋白质检测、SNP位点分析、微卫星标记、特异性等位基因、皮肤移植等研究手段,建立了该近交系特有的等位基因鉴定方法,并已获得国家发明专利。但仍需用经典的皮肤移植、SNP芯片等技术鉴定,结果发现,近交系猪异体皮肤移植不会发生免疫排斥反应(付小兵等. 五指山猪近交系自体 and 异体皮肤移植实验研究报告, 2013-01)。该近交系与海南五指山猪的遗传基础具有本质不同,可作为新品种资源培育成功的证据(冯书堂等, 2012; 冯书堂, 2013. 农业部科技成果鉴定《小型猪近交系研

表1 F₁₃~F₁₈ WZSP近交系平均杂合度和平均等位基因数
Table 1 The average heterozygosity and number of alleles of F₁₃~F₁₈ generation of inbred WZSP

代数	平均杂合度(H)	平均等位基因数(N)
Generation	Average heterozygosity	Average number of alleles
F ₁₃	0.31	2.21
F ₁₄	0.42	2.57
F ₁₅	0.36	2.43
F ₁₆	0.41	2.57
F ₁₇	0.37	2.35
F ₁₈	0.20	1.64

究与鉴定》证书)。

SW24等位点10个基因座位上有22个特异等位基因,可用于与贵州、广西巴马小型猪品种间的区别鉴定(冯书堂, 2012)。SW936位点上88 bp为其特有的等位基因,可作为五指山小型猪的一种分子标记(冯书堂等, 2007); 9个具有多态性位点的SNPs比对,发现该近交系在Pnas-4 (StyI)完全纯合,而香猪、巴马香猪、大白猪、通城猪、长白猪等5个品种不纯合(Huang et al., 2010; 冯书堂等, 2012); AKP蛋白质标记AA型为该近交系特有的遗传标记(冯书堂, 2007)。利用猪高密度SNP芯片检测,该近交系纯合位点不低于80%、其每世代含有多个杂合度等于1的位点(申报发明专利, 201410152868.3和20141052868.5)。

1.4 建立近交系猪的5条标准

经查新证实,目前国内外还未见近交系猪鉴定标准的相关报道。依据国际有关啮齿类近交系鼠类的规定和近交系鼠的遗传监测方法,基于该近交系猪种质和分子遗传特异性,经专家修订提出如下5条鉴定标准:(1)遗传背景清楚、基因高度纯合,由2头祖代猪连续近交繁育20代以上;(2)建有完整的技术档案和系谱,具有一定的近交系群体;(3)应具

有明显的品种体貌、体型特征;(4)近交系猪异体皮肤移植不发生免疫排异反应;(5)具有特定的分子遗传标记:如,特有等位基因、生化遗传位点等。

2 小型猪近交系品种的生物特性

2.1 培育出国际上第一个小型猪近交系品种,获得新的遗传资源

利用猪近交系全基因组水平验证策略及手段来鉴定品种资源。6万多个SNP芯片监测发现,分布于近交家系18对常染色体上的61 565个有效SNPs中,F₂₀ 48个群体中纯合率高达80.0%以上(与近交系小鼠相似),而非近交系五指山猪相应位点几乎无一纯合,几乎全部处于弥漫性、无规律的高度杂合状态;相反在杂合区域每一世代均出现杂合度为1的位点,而在16头对照组海南五指山猪中则没有发现该现象。结果表明,该近交系与海南五指山猪的遗传基础具有本质不同,该结果不仅证明该近交系培育成功,同时证实其为一个新品种,标志了一种新遗传资源的诞生(李凯等, 2009b; 冯书堂等, 2012)。

2.2 近交系猪生物学特征

WZSP近交系猪具有体型小、性成熟早、产仔率较高、遗传稳定、无PERV-C拷贝、A、B型拷贝少等种质特异性(Fang et al., 2012; 李凯等, 2009a, 2009b; 程文科等, 2012; 冯书堂等, 2012)

大量测定结果表明,WZSP近交系母猪初产仔4~6头,经产母猪窝产仔6~8头,最高达到11头。其出生平均体重(0.33±0.083) kg(n=29)、1月龄体重为(2.94±0.55) kg、2月龄体重为(5.55±1.30) kg, 6月龄公猪体重为(14.9±0.8) kg、母猪为(17.6±1.0) kg, 12月龄公猪体重为(29.4±1.0) kg、母猪为(31.7±1.2) kg; 24月龄体重为(36~40) kg; 2月龄具有配种和妊娠能力,且性情比较温和等特点,是理想的动物模

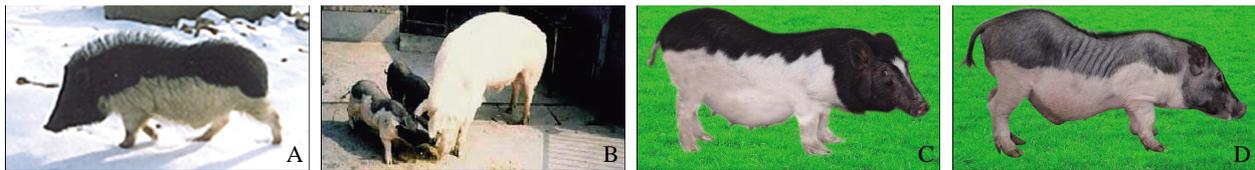


图2 五指山小型猪体型外貌

Figure 2 Shape appearance of WZSP

A: 初代五指山小型猪; B: 小型猪近交系与同12月龄大白猪; C: 近交系成年母猪; D: 近交系成年公猪

A: First generation of WZSP; B: WZSP and Large White with 12 months of age; C: Inbred adult sows; D: Inbred adult boar

型(图2)。

中国军事医科院研究发现,该近交系内源性逆转病毒PERV-A,B拷贝数较少(8~12拷贝,其他品种一般60个左右)、拷贝越多毒性感染能力越强,且没有PERV-C拷贝,可避免强毒A、C型交叉感染形成更强毒性型,并无应激反应基因、其免疫代谢基因与人类有较高同源性,目前发现人类247个心血管疾病基因中该近交系仅缺少了年龄相关性黄斑病变敏感性蛋白2(age-related maculopathy susceptibility 2, ARMS2)和胆固醇酯转移蛋白(cholesterol ester transferprotein, CETP),其余基因和人的相似度约为85%;该近交系中有1 618个药物靶基因与人类(1 624个)是同源,而鼠、猕猴只有1 616个。从基因水平上证明,该近交系是人类理想的疾病动物模型和“替难者”(Fang et al., 2012; 冯书堂等, 2012; Sun et al., 2007; 王攀等, 2012)。有关研究成果2012年发表于《GigaScience》,美国《Science Daily》撰文评价该近交系遗传基因高度纯合,是一种理想的实验动物模型等(Groenen et al., 2012; Wang et al., 2014; Dong et al., 2013)。

2.3 大型哺乳动物近交系猪,部分等位基因“不纯合”

研究发现,该近交系随近交代数推进,其群体微卫星等位基因纯合逐步提高,等位基因数越来越少;具有部分基因较早纯合、多数基因逐步纯合、少数基因(如SW936, SW874)一直不纯合的变化规律,据此研究人员提出了推断假说:基因序列部分片段具有特殊功能的等位基因纯合度不会达到0.999 9(李凯等, 2009a; 2009b; 程文科等, 2012; 冯书堂等, 2012)。

3 小型猪近交系新品种推广所取得的经济和社会效益

本研究所已累计向北京、天津及周边省市等地区70多个单位提供SPF级、清洁级实验用近交系猪3 000余头,制定并颁布“北京地区实验用小型猪SPF级标准”和国家实验用小型猪标准草案。培育的近交系属于社会公益性研究成果,作为人类的“替难者”已成功用于人类疾病模型、新药临床前评价、食品安全、异种器官移植、干细胞研究等,

如新药鉴定,皮肤移植生物制品06-46凝胶剂等已通过检测(报待批);军事医学科学院已获医药

注册号(粤食药监(准)字2007D264010),战地救护止血新制剂获得生产批号、投产应用并产生较大的经济效益。

作为制造优质、高产异种猪的医用生物材料,近交系猪已展露其实际应用前景。基于五指山小型猪近交系在人类医学领域及生物辅料研发的应用,仅北京博辉瑞进生物科技有限公司一个单位为例,在医用异种脱细胞胞外基质材料取得突破性进展:授权国家发明、实用专利5项,申报10项待批,如,一种医用生物相容性材料的制备及其应用(ZL200710165631.9),一氧化氮合酶(NOS)抑制剂用于治疗痔的新用途(ZL200510000277.5),用于制备脱细胞组织基质材料的清洗机,实用授权(201320376705.4),用于制备脱细胞小肠粘膜下层基质材料的模具,实用授权(201320298295.6)等。

其中研发的疝生物补片、生物凝胶、生物敷料、肛瘘生物塞等具有良好的生物相容性,无毒性、刺激性和免疫原性,优于美国COOK公司已应用于临床的产品。研制的SIS材料孔洞均匀,柔软,弹性好,吸水性强,网孔大小一致,约30~60 μm ,孔隙率高(90 \pm 5.8)%,2015年初将获得国家以及临床前安全性评价,以及合格的产品注册检验报告等。已在大兴高科技园区开始产业化运作,预测投产后具有较大的经济和社会效益。

该近交系已列为国家异种器官移植首选用猪,已获得敲除a-1.3半乳糖转移酶人源化基因猪等,猪--藏酋猴肝脏异种器官移植在中国首次尝试并获得成功(新华社报道, 2013),并且创立了存活14 d的世界纪录。标志着中国异种器官移植研究跨入世界先进行列,也说明该近交系将在中国异种器官移植基础研究和应用,及造福人类方面发挥难以估量的作用显示该近交系猪具有广阔地开发应用前景。尤其值得一提的是,该近交系已列为国家异种器官移植首选用猪,已获得敲除a-1.3半乳糖转移酶人源化基因猪等,猪--藏酋猴肝脏异种器官移植在中国首次尝试并获得成功(新华社报道, 2013),并且创立了存活14 d的世界纪录。标志着中国异种器官移植研究跨入世界先进行列,也说明该近交系将在中国异种器官移植基础研究和应用,及造福人类方面发挥难以估量的作用。

目前研究人员已掌握小型猪近交系繁育、饲养、生产等配套技术,近交系猪分子遗传学鉴定技术,近交系猪皮肤移植鉴定实验配套技术,SPF猪

净化培育、饲养及生产等配套技术。此外,研究人员培育出SPF猪、获得种质特性应用参考数据,将其成功用于人类疾病模型。这些工作为今后大规模开发利用提供了技术保障(冯书堂等,2012;艾琴等,2007;杨红军等,2006,2007;顾宪红,杨红军,2009)。

近交系的培育成功创建了新的遗传资源,国家畜禽资源委员会已将其列为国家五指山猪资源种猪场(C1101001,2008.7),为中国畜禽品种资源保护利用开辟了新路;本项目具有起点高、创新性强、经济和社会效益明显等特点,该近交系成果较国外至少领先10年以上。该近交系研究成果在中央电视台《百科探秘特别版》2008-9-“奇异的小猪”、科技日报等以“走近863”为题进行了多次报道;先后培养硕博研究生20名,其中10人已获得高级职称;先后获得中国农业科学院科学奖特等奖(2014),中国发明专利优秀奖(2009),北京市发明专利一等奖(2008-1-01),中华神农科技一等奖(KJ2007-G1-009-01),北京市科技进步三等奖(2006农-3-004-01),中国农业科学院科学研究一等奖(2006-3-1),农业部科技进步三等奖(1999)。标志着由2头猪培育的产业链已取得了一定的经济和较大的社会效益。

参考文献

艾琴,杨红军,顾宪红.2007.五指山猪的泌乳性能及泌乳行为[J].饲料工业,28(9):009.(Ai Q, Yang H J, Gu X H. The colostrum composition suckling behaviour and milk yield of Wuzhi Shan sows[J]. Feed Industry, 28(9): 009.)

程文科,阮楠,牟玉莲,等.2012.五指山猪近交家系I系F₁₉~F₂₁群体微卫星位点等位基因遗传变化[J].农业生物技术学报,20(08):867-873.(Cheng W K, Ruan N, Mu Y L, et al. 2012. Genetic regulation of F₁₉~F₂₁ microsatellite loci sileles of inbred line I of Wuzhishan mini-pig(*Sus scrofa*) [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 20(08): 867-873.)

冯书堂.2007.五指山小型猪实验用近交系培育用研究成果[J].中国农业科学,40(增):379-385.(Feng S T. 2007. The inbreeds culture of Chinese Wuzhishan mini-pig used for experiments[J]. Scientia Agricultura Sinica, 40(1): 379-385.)

冯书堂.2011.中国实验用小型猪[M].中国农业出版社(ISBN 978-7-109-15147-5)(Feng S T. 2011. Experimental Miniature Pig of China[M]. Beijing: China Agricultural

Press.)

冯书堂,李奎,牟玉莲,等.2012.五指山小型猪近交系培育与遗传资源创新[J].农业生物技术学报,20(08):849-857.(Feng S T, Li K, Mu Y L, et al. 2012. Inbreeding line culture of Wuzhishan mini-pig and the innovation in nurturing inbred for Chinese genetic resources[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 20(08): 849-857.)

顾宪红,杨红军.2009.小型猪营养需要量研究(1)体重,采食量,体组成及营养需要相关资料分析[J].中国比较医学杂志,19(2):53-56.(Gu X H, Yang H J. 2009. Studies on nutrient requirements of the minipig (1) data analysis of body weight, feed intake, body chemical composition and nutrient requirements[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 19(2): 53-56.)

李凯,冯书堂,牟玉莲,等.2009a.五指山猪3个近交家系内微卫星等位基因的遗传变化[J].中国农业科学,42(5):1751-1760.(Li K, Feng S T, Mu Y L, et al. 2009a. Study on genetic regulation of microsatellite loci gene of three inbred families of Wuzhishan miniature pig[J]. Scientia Agricultura Sinica, 42(5): 1751-1760.)

李凯,牟玉莲,韩建林,等.2009b.五指山小型猪近交系微卫星等位基因遗传规律的研究[J].畜牧兽医学报,40(3):296-302.(Li K, Mu Y L, Han J L, et al. 2009b. Study on genetic variation of inbred families of Wuzhishan miniature pig using microsatellite DNA loci[J]. Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica, 40(3): 296-302.)

欧江涛,黄礼光,王希龙,等.2004.五指山猪核心群32个基因座的遗传分析[J].动物生物技术学报,9(1):171-175.(Ou J T, Huang L G, Wang X L, et al. 2004. Genetic analysis of 32 microsatellite loci in 13 families of Wuzhishan pig[J]. Journal of Animal Biotechnology, 9(1): 171-175.)

王攀,陶晓丽,沈祖楠,等.2012.五指山小型猪近交系主动脉内皮细胞体外培养模型的建立和TLR2介导炎症相关因子的表达[J].中国农业科学,45(2):346-352.(Wang P, Tao X L, Shen Z N, et al. 2012. Establishment of aortic endothelial cells model *in vitro* from Wuzhishan of inbred miniature pig and expression of inflammatory cytokines mediated by TLR2[J]. Scientia Agricultura Sinica, 45(2): 346-352.)

王希龙,欧江涛,黄礼光,等.2006.中国地方种猪近交五指山猪遗传特性[J].繁殖与发育,52(5):639-643.(Wang X L, Ou J T, Huang L G, et al. 2006. Genetic characteristics of inbred Wuzhishan miniature pigs, a native Chinese breed[J]. Journal of Reproduction and Development, 52(5): 639-643.)

- 杨红军, 时建忠, 艾琴, 等. 2007. SPF 实验动物饲料的灭菌[J]. 饲料工业, 28(3): 61. (Yang H J, Shi J Z, Ai Q, et al., 2007. Sterilization of SPF laboratory animal feed[J]. Feed Industry, 28(3): 61.)
- 杨红军, 时建忠, 顾宪红. 2006. 制粒和膨化对饲料营养成分的影响[J]. 中国饲料, 17: 32-34. (Yang H J, Shi J Z, Gu X H. 2006. Effects of pelleting and extrusion on feed nutrients[J]. China Feed, 17: 32-34.)
- Bell A E, Moore C H, Warren D C. 1955. Warren: The evaluation of new methods for the improvement of quantitative characteristics[J]. Cold Spring Harbor SymPosia on Quantitative Biology, 20: 197-211.
- Bowman J C, Falconer D S. 1960. Inbreeding depression and heterosis of litter size in mice[J]. Genetics Research, 1: 262-274.
- Cbtjden D. 1949. The computation of inbreeding coefficient in closed populations[J]. Journal of Heredity, 40: 248-251.
- Davisson M T. 1996. Rules for Nomenclature of Inbred Strains. In Genetic Variants and Strains of the Laboratory Mouse (eds Lyon M F, Rastan S, Brown S D M)[M]. Oxford: Oxford University Press, pp.1532-1536.
- Dong X, Tsung H, Mu Y, et al. 2013. Generation of chimeric piglets by injection of embryonic germ cells from inbred Wuzhishan miniature pigs into blastocysts[J]. Xenotransplantation, 21(2): 140-148.
- Fang X D, Mu Y L, Huang Z Y, et al. 2012. The sequence and analysis of an inbred pig genome[J]. Giga Science, 1(1): 16.
- Groenen M A M, Archibald A L, Uenishi H, et al. 2012. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution[J]. Nature, 491(7424): 393-398.
- Huang H, Deng H, Yang Y, et al. 2010. Molecular characterization and association analysis of porcine *PANE1* gene[J]. Molecular Biology Reports, 37(5): 2571-2577.
- Jon A B, Lloyd S, Hafezparast M, et al. 2000. Genealogies of mouse inbred strains[J]. Nature Genetics, 24(1): 23-25.
- Kleelin J. 1975. Biology of the Mouse Histocompatibility-2 Complex in Principles of Immunogenetics Applied to Single System[M]. Berlin: Springer-Verlage.
- Köhler G, Milstein C. 1975. Continuous culture of fused cell secreting antibody of predefined specificity[J]. Nature, 256(5517): 495-497.
- Peter Medawar, Nobel Lecture, Immunological Tolerance, December 12, 1960.
- Sun J L, Mu Y L, Liu X L, et al. 2007. Study of swine leukocyte antigen class I-3 (SLA-3) gene for inbreeding Wuzhishan pig[J]. Agricultural Sciences in China, 6(12): 1502-1510.
- Wang X, Fang X, Yang P, et al. 2014. The locust genome provides insight into swarm formation and long-distance flight[J]. Nature Communications, 5: 2957.

(责任编辑 靳晓霞)