

八眉猪 *DRA* 基因编码区多态性及生物信息学分析

刘丽霞^{1,2}, 张 丽¹, 赵生国², 滚双宝^{2,3}

(1. 西北民族大学 生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730030; 2. 甘肃农业大学 动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃省现代养猪工程技术研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要:为了探讨八眉猪 *DRA* 基因的遗传特性及其在抗病育种和猪-人异种器官移植中的应用前景, 采用克隆测序的方法对该基因编码区进行多态性分析, 并利用生物信息学方法预测该基因编码氨基酸的理化特性和结构功能, 同时对该基因进行同源性分析。结果显示, 八眉猪 *DRA* 基因编码 252 个氨基酸, 编码区有 5 个核苷酸和 2 个氨基酸变异位点。*DRA* 基因编码产物是一种不稳定的不可溶蛋白, 二级结构为混合型, 无规则卷曲所占比例最高。蛋白质功能预测结果显示, *DRA* 基因免疫应答几率最高(4.405)。同源性分析发现, 八眉猪 *DRA* 氨基酸与其他猪种的相似度在 98% 以上, 与人的相似度达到 83%, 在 CD4 分子结合部位与人类相应的 *DRA* 仅存在 1 个氨基酸差异, 具有在异种移植排斥反应中利用的潜力。研究结果为八眉猪的抗病分子育种和猪-人异种器官移植提供理论依据。

关键词: 八眉猪; *DRA* 基因; 编码区; 多态性; 生物信息学

中图分类号: Q78; S828 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2015)04-0066-06

doi: 10.7668/hbxb.2015.04.012

Cloning and Bioinformatics Analysis on Coding Regions of *DRA* Gene in Bamei Pigs

LIU Li-xia^{1,2}, ZHANG Li¹, ZHAO Sheng-guo², GUN Shuang-bao^{2,3}

(1. College of Life Science and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China;

2. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

3. Modern Pigs Engineering Technology Research Center of Gansu, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The study aimed to elucidate the genetic characters of *DRA* gene in Bamei pigs and the potential in disease-resistance breeding and pigs to humans xenotransplantation, polymorphism of *DRA* gene coding regions in Bamei pigs were analyzed by DNA sequencing analysis, and further physicochemical characteristics, protein structures and functions were predicted using the bioinformatics tools and the homologies of amino acid sequences between SLA and HLA were compared. The results showed that *DRA* gene encoded 252 amino acids, there were only 5 nucleotide and 2 amino acid substitutions in *DRA* gene coding regions. Encoding product of *DRA* gene was a kind of instable and insoluble protein, the putative secondary structure of *DRA* was mixed, and the percent of random coil was highest. The putative result of *DRA* protein function showed that the odds of immune response were highest (4.405). The homologies of *DRA* amino acid sequences between Bamei and other pig breeds were more than 98%, and the homologies between Bamei and human were 83%, the position which bind to human CD4 showed only one difference with HLA-*DRA*, which had potential using in xenograft rejection. These results would provide a basis for the study of molecular breeding in disease resistance and xenotransplantation.

Key words: Bamei pigs; *DRA* gene; Coding regions; Polymorphism; Bioinformatics

猪白细胞抗原(Swine leukocyte antigen, SLA)位点^[1]。SLA II类分子包含 α 和 β 链的 *DQ*、*DR*、*DO* 和 *DM* 基因, 其中 *DQ* 和 *DR* 基因位于抗原呈递细胞于猪 7 号染色体上, 由 I 类、II 类和 III 类分子构

收稿日期: 2015-04-27

基金项目: 西北民族大学中央高校基本科研业务费专项(31920130048); 甘肃省农牧厅生物技术专项(GNSW-2008-04)

作者简介: 刘丽霞(1983-), 女, 甘肃陇南人, 高级实验师, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

通讯作者: 滚双宝(1967-), 男, 甘肃张掖人, 教授, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

表面,主要作用是将抗原肽呈递给 CD⁴⁺ T 细胞,从而影响机体的免疫应答和调控^[2]。研究表明,*DQB* 和 *DRB* 基因存在显著的多态性^[3-6],*DQB* 基因和猪的繁殖性能以及生产性能存在一定的关系^[7-9]; *DQA* 基因属于中度多态基因^[10],与猪的生产性能和疾病存在相关性^[11-13]; *DRA* 基因属于低度多态基因,对仔猪腹泻有显著影响^[14-15]。

猪被认为是异种移植最理想的供体来源^[16], *SLA* 参与移植排斥反应,是引起异种移植急性细胞性排斥的主要遗传因素^[17],选择与人类 *MHC* 同源性高的猪种作为异种移植的供体对异种移植的成功有利,因此,前人对 *SLA* 基因编码区 (Coding regions, CDS) 的研究主要集中在其与人类白细胞抗原 (Human Leukayk antige, HLA) 基因间的同源性对比分析,唐医亚等^[18] 和王燕等^[19] 分别分析了湖南沙子岭猪和湖南大围子猪 *SLA-DR* 基因与人 *HLA-DR* 基因间的同源性;莫斯科等^[20] 分析了甘肃合作猪与人类 *DRA* 和 *DRB* 基因同源性;刘子展等^[21] 发现广西巴马小型猪 *DQA* 基因遗传结构与人的同源性很高。有关 *SLA-DRA* 基因 CDS 区序列理化特征和蛋白质高级结构功能的研究还未见报道。

八眉猪 (Bamei pigs) 是我国著名的地方猪种,

具有适应性强、抗逆性好、遗传性能稳定和近交不易衰退等特征^[22]。本研究以青海互助地区的八眉猪为研究对象,已对 *DQA* 基因 CDS 区进行了全面的分析^[23],本研究采用相同方法分析了八眉猪 *DRA* 基因 CDS 区多态性,预测了 *DRA* 氨基酸的理化特性、氨基酸组成、编码蛋白的高级结构功能和同源性,以期明确八眉猪 *DRA* 基因的遗传特征,为深入研究 *DRA* 基因及其编码氨基酸的功能提供理论基础,也为该基因抗病相关研究和猪-人异种器官移植研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料和方法

试验材料采集、基因组 DNA 提取、PCR 反应各成分组成和克隆测序方法均按参考文献[23]介绍的方法进行。

1.2 引物设计和 PCR 扩增条件

根据 GenBank 数据库中太湖猪的 *DRA* 全长基因序列 (登录号 AY303990),利用 Primer 5.0 软件设计 4 对引物 (表 1),分别扩增 *SLA-DRA* 基因 4 个外显子序列和部分内含子序列,引物由大连宝生物科技股份有限公司合成。

表 1 *SLA-DRA* 基因引物信息表
Tab.1 Information of *SLA-DRA* primers

位置/bp Location	引物序列 (5' - 3') Sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	片段长度/bp Length of PCR production
外显子 1 Exon1 (151 ~ 226)	F: CTTTGCTGTATTGC R: ACCTAACTACCCCTC	56.8	186
外显子 2 Exon2 (2 884 ~ 3 129)	F: CAGAGAATCACGTGATCAT R: ACAGGTACCATTGGTGTT	55.0	257
外显子 3 Exon3 (3 573 ~ 3 854)	F: TGCTAAACAGGGAAGGCT R: ACAAAGGAGACTGAGGGATG	56.8	352
外显子 4 Exon4 (4 155 ~ 4 309)	F: TCCCGTAATACATCGTTC R: TTCCTTTCCTTGGCTCAT	55.6	357

表 2 蛋白结构功能预测方法及相关网址
Tab.2 The method of prediction about protein structure or function and related web sites

蛋白结构功能 Protein structure or function	预测网址及相关软件 Predicted web sites and related software
开放阅读框 (ORF) Open reading frame	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html
理化性质 Physical and chemical properties	http://web.expasy.org/protparam/
疏水性/亲水性 Hydrophobicity/hydrophilcity	http://web.expasy.org/protscale/
磷酸化位点 Phosphorylation	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/
N-糖基化位点 N-glycosylation	http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/
二级结构 Secondary structure	http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html
三级结构 Tertiary structure	http://swissmodel.expasy.org/
三级结构绘图 Drowing of tertiary structure	PyMOL 软件
功能 Function	http://www.cbs.dtu.dk/services/ProtFun/
系统发育树 Phylogenetic tree	MEGA6.0 软件

PCR 扩增条件为:94 ℃ 预变性 2 min;94 ℃ 变性 20 s,退火(退火温度见表 1)30 s,72 ℃ 延伸 30 s,30 个循环;最后 72 ℃ 延伸 10 min。扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。

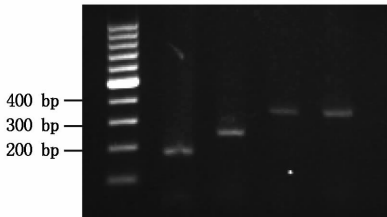
1.3 数据处理

利用 MEGA6.0 和 Editseq 软件进行序列比对和拼接。生物信息学分析工具见表 2。

2 结果与分析

2.1 DRA 基因扩增结果

PCR 扩增产物琼脂糖电泳条带清晰,特异性良好,片段大小与预期扩增片段相符(图 1)。



M. 100 bp DNA Marker;1 ~ 4. *DRA* 基因 Exon1 ~ Exon4 PCR 产物。
M. 100 bp DNA Marker;1 ~ 4. PCR product of Exon1 ~ Exon4.

图 1 八眉猪 *DRA* 基因 PCR 扩增产物检测结果
Fig.1 Agarose gel electrophoresis of the PCR amplicons of *DRA* gene in Bamei pigs

2.2 DRA 基因 CDS 区序列比对分析

将拼接的八眉猪 *DRA* 基因与 GenBank 中公布的太湖猪 (AY303990) 全长序列的 CDS 区序列进行比对(表 3)。八眉猪 *DRA* 基因 CDS 区共有 5 个核苷酸位点发生改变,仅有 2 个位点为错义突变,外显子 2 区域的 c.286T > C 导致第 96 位甲硫氨酸(M)转变为亮氨酸(L),外显子 4 区域的 c.617C > T 导致第 206 位谷氨酰胺(Q)转变为精氨酸(R)。

表 3 八眉猪 *DRA* 基因核苷酸和氨基酸突变位点
Tab.3 Mutational sites of nucleotide and amino acid of *DRA* gene in Bamei pigs

区域 Regions	核苷酸位点 Nucleotide sites	氨基酸位点 Amino acid sites
外显子 1 Exon1	c. 27A > G	
外显子 2 Exon2	c. 286T > C	p. 96M > L
	c. 617C > T、	
外显子 4 Exon4	c. 696G > A、 c. 732G > A	p. 206Q > R

2.3 生物信息学分析

2.3.1 DRA 基因序列的开放阅读框(ORF)分析

八眉猪 *DRA* 基因 ORF 分析结果如图 2 所示,全长为 759 bp,含有一个重叠碱基。

2.3.2 DRA 氨基酸理化特性预测与分析 八眉猪 *DRA* 基因 CDS 区由 252 个氨基酸组成,包含 20 种标准氨基酸,各种氨基酸所占比例如图 3 所示,缬氨

酸(Val)数目最多,为 26 个,占整个氨基酸组成的 10.3%,半胱氨酸(Cys)和酪氨酸(Tyr)仅有 3 个,所占比例最低(1.2%)。负电荷残基总数(Asp + Glu)为 34,正电荷残基总数(Arg + Lys)为 23,半衰期为 30 h,分子式为 C₁₃₀₀H₂₀₁₉N₃₃₃O₃₆₇S₇,分子质量为 28.409 7 kDa,理论等电点(PI)为 5.12,不稳定指数为 40.43。

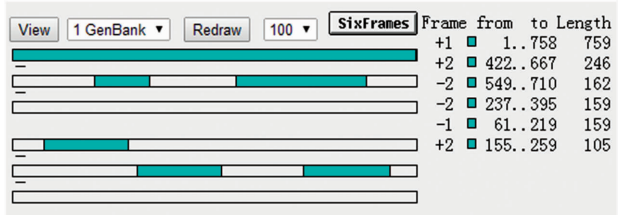


图 2 *SLA-DRA* 基因序列的 ORF 分析

Fig.2 ORF ananlysis of *SLA-DRA* gene sequence

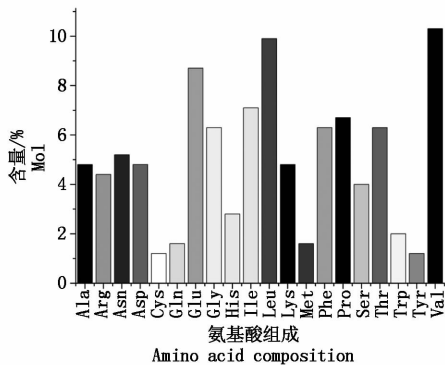


图 3 八眉猪 *DRA* 氨基酸组成预测

Fig.3 Putative amino acid composition of *DRA* in Bamei pigs

2.3.3 DRA 氨基酸疏水性/亲水性预测和分析

八眉猪 *DRA* 氨基酸序列疏水性/亲水性预测结果如图 4 所示,横坐标代表氨基酸的位置,纵坐标代表疏水性的分值,分值越高,疏水性越强,0 值以上为疏水区,0 值以下为亲水区。多肽链的第 216 位至 239 位氨基酸区域为疏水性最强的区域,第 227 位的缬氨酸(Val)疏水性最强,具有最高的分值(3.478),第 245 位的丙氨酸(Ala)分值最低(-2.633),亲水性最强。整条氨基酸肽链中亲水氨基酸所占比例较高(57.55%),但总平均分为 0.018,表现为疏水性。

2.3.4 DRA 氨基酸的磷酸化和 N-糖基化位点预测

八眉猪 *DRA* 氨基酸序列中存在 11 个潜在的磷酸化位点,包括 5 个 Ser 位点(Ser38、Ser42、Ser116、Ser156 和 Ser179)、4 个 Thr 位点(Thr64、Thr207、Thr216 和 Thr246)和 2 个 Tyr 位点(Tyr36 和 Tyr184),并存在 2 个潜在的 N-糖基化位点,分别为 Asn141 和 Asn244(图 5)。

2.3.5 DRA 蛋白质的二级结构和三级结构预测与分析

八眉猪 *DRA* 蛋白二级结构组分中 α -螺旋(Hh)占 20.24%,伸展链(Ee)占 32.14%, β -转角

(Tt) 占 6.35%, 无规则卷曲 (Cc) 占 41.27% (图 6)。三级结构预测结果如图 7 所示, 由 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲组成。

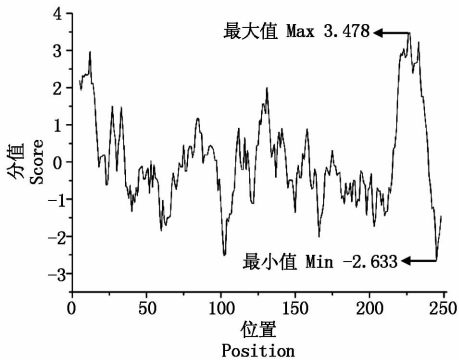


图 4 八眉猪 *DRA* 蛋白的疏水性预测结果

Fig. 4 The hydrophobicity profile of *DRA* in Bamei pigs

```
MTILGVPVLGVITILNLQKSWAIVENHVIIQAEFYLSPDKSGEFMFDFGDGEIFHVDMEKRETVWRLEE
eeetccchhhhhheeeeccthhhhhheehheeeccccccccceeecccttheeeehTTTTCEEECCC
FGHFASPEAQGALANIAVDKANLEILIKRSNNTPTNPPEVTVLSDKPVELGEPNIIICFIDKFSPPVV
ccccccchhhhhhhhhhhhhhhhhhhhhcccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
NVTWLRNGSPVTRGVSETVFLPREDFLFRKFHYLPFMPSTEDVYDCQVEHWGLDKPLLKHWEFEARTPLP
eeeeettccceettccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccccc
ETTENTVCALGLIIVALVGIIVGTVLIIGVRKGNATERRGPL
ccchhhhhhhhhheeeeeeeeeeeeeeeetccccchhcccc
h.  $\alpha$  螺旋; e. 伸展链; t.  $\beta$ -转角; c. 无规则卷曲。
h. Alpha helix; e. Extended strand; t. Beta turn; c. Random coil.
```

图 6 八眉猪 *DRA* 蛋白二级结构预测

Fig. 6 Putative result of *DRA* protein secondary structure in Bamei pigs

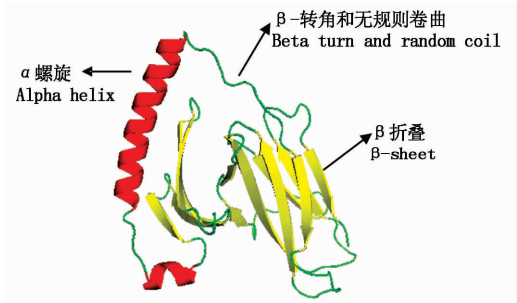


图 7 八眉猪 *DRA* 蛋白三级结构模型预测

Fig. 7 Putative result of *DRA* protein tertiary structure in Bamei pigs

2.3.6 *DRA* 蛋白质的功能预测与分析 八眉猪 *DRA* 基因编码蛋白质的信号转导、受体、胁迫应答、免疫应答和生长因子的几率相对较高, 分别为 1.666, 3.775, 2.208, 4.405, 2.442, 其中免疫应答的几率最高, 表明 *DRA* 基因可能在八眉猪免疫应答中发挥重要作用 (表 4)。

2.3.7 *DRA* 氨基酸序列的同源性分析及系统发育分析 八眉猪 *DRA* 氨基酸与其他各猪种的相似度达到 98%~100%, 与其他物种间的对比结果见表 5。八眉猪 *DRA* 氨基酸与家猫的相似度最高 (85%), 与小鼠的相似度最低 (76%), 与人的相似

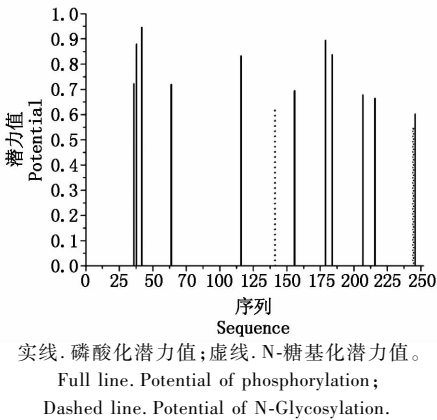


图 5 八眉猪 *DRA* 蛋白的磷酸化和 N-糖基化位点
Fig. 5 Phosphorylation and N-Glycosylation sites of *DRA* in Bamei pigs

表 4 八眉猪 <i>DRA</i> 蛋白质的功能预测		
Tab.4 Putative result of <i>DRA</i> protein function in Bamei pigs		
GO 功能	Gene ontology category	几率 Odds
信号转导	Signal transducer	1.666
受体	Receptor	3.775
荷尔蒙	Hormone	0.206
结构蛋白	Structural protein	0.134
运载体	Transporter	0.216
离子通道	Ion channel	0.163
电压门控离子通道	Voltage gated ion channel	0.074
阳离子通道	Cation channel	0.217
转录	Transcription	0.279
转录调控	Transcription regulation	0.173
胁迫应答	Stress response	2.208
免疫应答	Immune response	4.405
生长因子	Growth factor	2.442
金属离子转移	Metal ion transport	0.020

度达到 83%。SLA-DR α 链与人 CD4 分子结合部位介于第 124~136 位氨基酸, 对八眉猪和人 *DRA* CD4 分子结合部位的序列对比结果发现, 八眉猪仅在第 125 位发生氨基酸改变 (精氨酸 R \rightarrow 谷氨酰胺 Q)。根据氨基酸序列构建哺乳动物 *DRA* 蛋白的系统发育树 (图 8), 从进化树上可以看出与八眉猪亲缘关系由近及远分别为: 家猫、家犬、马、绵羊、牛、猕猴、人、黑猩猩、大鼠和小鼠, 符合物种进化规律。

表 5 八眉猪 *DRA* 氨基酸序列比对
Tab.5 The similarity analysis of *DRA*
amino acid sequence in Bamei pigs

物种 Species	GenBank 登录号 GenBank accession number	相似性/% Similarity
人 <i>Homo sapiens</i>	BC071659	83
小鼠 <i>Mus musculus</i>	P14439.2	76
大鼠 <i>Rattus norvegicus</i>	AAR87772.1	78
黑猩猩 <i>Pan troglodytes</i>	NP_001127811.1	83
猕猴 <i>Macaca mulatta</i>	NP_001127770.1	84
牛 <i>Bos taurus</i>	AAI02054.1	80
马 <i>Equus caballus</i>	NP_001271471.1	82
绵羊 <i>Ovis aries</i>	AFN25704.1	81
家猫 <i>Felis catus</i>	ACK99138.1	85
家犬 <i>Canis lupus familiaris</i>	NP_001011723.1	83

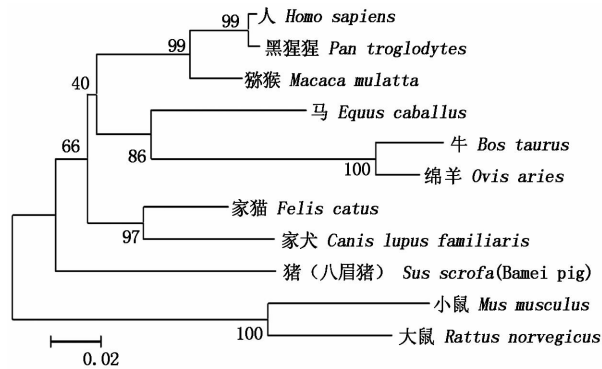


图 8 哺乳动物 *DRA* 蛋白系统发育树

Fig.8 Phylogenetic tree of mammals' *DRA*

3 讨论

SLA 是一类高度多态、紧密连锁且与疾病有密切关系的基因群,在免疫应答过程中起重要作用,其分子通过将抗原肽呈递给 T 细胞,从而启动特异性的免疫应答。多态性分析结果表明,*DRA* 基因 CDS 区仅有 5 个碱基突变位点,且仅有 2 个位点是错义突变,导致 2 个氨基酸发生改变,证明了猪的 *DRA* 是低度多态的基因。

八眉猪 *DRA* 基因由 252 个氨基酸组成,依据氨基酸理论等电点 (PI) 的值 (5.12) 和氨基酸的不稳定指数 (>40),推测该蛋白为酸性蛋白且是不稳定蛋白^[24]。贾浩等^[25]研究表明,蛋白质半衰期和稳定性之间呈现一定的正相关,与本研究发现的八眉猪 *DRA* 具有较长的半衰期 (30 h) 却是不稳定蛋白的结果不符,出现这种情况可能与 *DRA* 基因不同生理功能的发挥存在某种联系。

氨基酸的疏水性是 20 种氨基酸固有的特性,对蛋白质的稳定性、构象和功能具有重要意义。总平均疏水性可以体现蛋白质的亲疏水性质,数值越高

代表疏水能力越强。八眉猪 *DRA* 氨基酸总平均疏水性值为 0.018,因此可推断八眉猪 *DRA* 编码的蛋白质是一种不可溶蛋白^[26]。

蛋白质磷酸化可以改变激酶、离子通路等,从而改变细胞应激或新陈代谢,能调节蛋白质在信号转导中的作用,改变基因表达、细胞生长和分化^[27]。八眉猪 *DRA* 蛋白中共有 11 个 (5 个 Ser, 4 个 Thr 和 2 个 Tyr) 潜在的磷酸化位点,这些位点可能影响到某些细胞的代谢调控过程和病毒的信号转导。糖基化主要修饰天冬酰胺上的 N 端,从而影响免疫分子的结构和功能,从而影响机体对抗原的应答反应^[28]。八眉猪 *DRA* 蛋白有 2 个 N-糖基化位点,可能会影响 *DRA* 基因与病原相关分子的连接绑定。

二级结构主要指多肽链依赖氢键排列成在一维方向上具有周期性结构的构象,对其进行预测和分析有助于认识蛋白的空间结构。八眉猪 *DRA* 基因预测结果显示二级结构中 Hh < 45%、Ee > 20%,由此可推测八眉猪 *DRA* 蛋白为混合型二级结构^[29]。无规则卷曲易受侧链相互影响而改变空间构象,α螺旋和无规则卷曲是蛋白质肽链中构成配体受体结合的活性部位^[30],*DRA* 蛋白二级结构中大量的无规卷曲可能影响蛋白质肽链的结合活性,从而影响蛋白质的功能。蛋白质功能预测显示,八眉猪 *DRA* 基因编码蛋白的免疫应答的几率最高,说明该基因可能对八眉猪的免疫力具有较强的调节作用。

同源性分析发现,八眉猪与其他猪种同源性高达 98% 以上,这证实了猪 *DRA* 基因的高度保守性。八眉猪与小鼠和大鼠序列相似度不到 80%,而与其他哺乳动物的序列相似度均达到 80% 以上,聚类分析结果也可以看出,猪与小鼠和大鼠的遗传距离最远,与其他动物可聚为一类。八眉猪与人 *DRA* 基因在氨基酸水平的同源性可达 83%,这与巴马小型猪 (83.1%)^[21] 和湖南沙子岭猪 (83%)^[18] 一致,略高于合作猪 (82.6%)^[20] 和湖南大围子猪 (82%)^[19]。人 CD4 分子在排斥反应中发挥重要作用,八眉猪 SLA-*DRA* 在 CD4 分子结合部位与人类相应的 *DRA* 仅存在 1 个氨基酸差异,说明八眉猪与人在 *SLA-DRA* 基因上的组织相容性较好,具有在异种移植排斥反应中利用的潜力。

本研究分析了八眉猪 *DRA* 基因 CDS 区的多态性,预测了 *DRA* 蛋白的理化特性、结构和功能,并建立了系统发育树,分析了各物种间的相似性和进化关系。分子特性和高级结构的预测结果为深入研究八眉猪 *DRA* 基因分子结构和功能及其发挥该功能的活性位点的验证奠定了基础,为深入探讨 *SLA-DRA*

基因的致病机理和免疫机制提供了有利条件。同源性分析结果为猪-人异种器官移植提供理论基础。

参考文献:

- [1] Geffrotin C, Popescu C P, Crihiu E P, *et al.* Assignment of MHC in swine to chromosome 7 by in situ hybridization and serological typing[J]. *Annales de Genetique*, 1984, 27(4): 213 – 219.
- [2] Lunney J K, Ho C S, Wysocki M, *et al.* Molecular genetics of the swine major histocompatibility complex, the SLA complex[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2009, 33(3): 362 – 374.
- [3] Kanai T H, Tanioka Y, Tanigawa M, *et al.* Allelic diversity at class II DRB1 and DQB loci of the pig MHC (SLA) [J]. *Immunogenetics*, 1999, 50(5 – 6): 295 – 300.
- [4] Fang M, Braunschweig M, Hu X, *et al.* Genetic variation of exon 2 of *SLA-DQB* gene in Chinese pigs[J]. *Biochemical Genetics*, 2005, 43(3 – 4): 119 – 125.
- [5] 包文斌, 吴圣龙, 曹晶晶, 等. 19 个猪种 *SLA-DQB* 基因外显子 2 多态性分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(10): 1550 – 1554.
- [6] 包文斌, 叶 兰, 鞠慧萍, 等. 野猪和 17 个家猪群体 *SLA-DRB* 基因外显子 2 的多态性分析[J]. *扬州大学学报: 农业与生命科学版*, 2009, 30(4): 35 – 39.
- [7] 包文斌, 吴圣龙, 陈国宏, 等. 苏太猪 *SLA-DQB* 基因外显子 2 多态性及其与繁殖性能的关联分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2007, 38(7): 636 – 640.
- [8] 钱锦花, 连林生. 撒坝猪 *SLA-DQB* 基因与生长性状的相关性分析[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2014, 2(3): 77 – 79.
- [9] 杨文平, 张家琦, 曹果清, 等. 山西白猪 *SLA-DQB* 基因多态性与生产性状的关联分析[J]. *河南农业大学学报*, 2014, 48(1): 58 – 60, 65.
- [10] Chardon P, Renard C, Vaiman M. The major histocompatibility complex in swine[J]. *Immunological Reviews*, 1999, 167(1): 179 – 192.
- [11] 吴圣龙, 鞠慧萍, 包文斌, 等. 苏太猪 *SLA-DQA* 基因多态性及其与生产性能的关联分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2007, 34(7): 38 – 40.
- [12] 钱锦花, 连林生. 撒坝猪 *SLA-DQA* 基因多态性与生长性状的相关性分析[J]. *畜牧与兽医*, 2014, 46(5): 59 – 61.
- [13] Yang Q L, Kong J J, Wang D W, *et al.* Swine leukocyte Antigen-DQA gene variation and its association with Piglet diarrhea in large white, landrace and duroc[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2013, 26(8): 1065 – 1071.
- [14] 杨巧丽, 孔晶晶, 赵生国, 等. 猪 *SLA-DRA* 基因外显子 2 多态性及其与仔猪腹泻的关联分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(7): 1020 – 1027.
- [15] Yang Q L, Zhao S G, Wang D W, *et al.* Association between genetic polymorphism in the Swine Leukocyte antigen-DRA Gene and piglet diarrhea in three Chinese pig breeds[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2014, 27(9): 1228 – 1235.
- [16] Yamada K, Griesemer A, Okumi M. Pigs as xenogeneic donors[J]. *Transplantation Reviews*, 2005, 19(3): 164 – 177.
- [17] Mirenda V, Golshayan D, Read J, *et al.* Achieving permanent survival of islet xenografts by independent manipulation of direct and indirect T-cell responses[J]. *Diabetes*, 2005, 54(4): 1048 – 1055.
- [18] 唐医亚, 邢晓为, 薛立群, 等. 湖南沙子岭猪 *SLA-DR* 基因克隆及生物信息学分析[J]. *遗传*, 2007, 29(12): 1491 – 1496.
- [19] 王 燕, 邢晓为, 薛立群, 等. 湖南大围子猪 *SLA-DR* 基因克隆及其生物信息学分析[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 25(9): 770 – 773.
- [20] 莫斯科, 房永祥, 冯海燕, 等. 甘肃合作猪白细胞抗原经典 II 类分子 *DR* 基因克隆及生物信息学分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(11): 1662 – 1668.
- [21] 刘子展, 王在贵, 李 奎, 等. 广西巴马小型猪白细胞抗原经典 II 类基因克隆及生物信息学分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(9): 1353 – 1359.
- [22] 冶占顺, 包淑英. 八眉猪的保种与利用[J]. *中国畜牧兽医*, 2008, 35(9): 148 – 150.
- [23] 刘丽霞, 张 丽, 赵生国, 等. 八眉猪 *DQA* 基因编码区多态性及生物信息学分析[J]. *华北农学报*, 2015, 30(1): 103 – 108.
- [24] Guruprasad K, Reddy B V, Pandit M W. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence[J]. *Protein Engineering*, 1990, 4(2): 155 – 161.
- [25] 贾 浩, 张小白, 宋晓峰. 人类胞内蛋白半衰期与其亚细胞定位的相关性研究[J]. *计算机与应用化学*, 2011, 28(4): 411 – 414.
- [26] Kyte J, Doolittle R F. A simple method for displaying the hydropathic character of a protein[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1982, 157(1): 105 – 132.
- [27] Zor T, Mayr B M, Dyson H J, *et al.* Roles of phosphorylation and helix propensity in the binding of the KIX domain of CREB-binding protein by constitutive (c-Myb) and inducible (CREB) activators[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(44): 42241 – 42248.
- [28] Calarese D A, Scanlan C N, Zwick M B, *et al.* Antibody domain exchange is an immunological solution to carbohydrate cluster recognition [J]. *Science*, 2003, 300(5628): 2065 – 2071.
- [29] Rost B, Sander C. Combining evolutionary information and neural networks to predict protein secondary structure[J]. *Proteins*, 1994, 19(1): 55 – 72.
- [30] 郑海军, 朱 荣, 葛春蕾, 等. 人白细胞介素 - 29 的生物信息学分析[J]. *中国生物制品学杂志*, 2013, 26(2): 209 – 212, 217.