

## 二花脸与杜洛克猪繁殖相关基因表达差异

杜红丽<sup>1</sup>, 陈静<sup>2</sup>, 张玉山<sup>2</sup>, 崔建勋<sup>3</sup>, 张细权<sup>2</sup>

(1 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东 广州 510640; 2 华南农业大学动物科学学院, 广东 广州 510642; 3 广东省农业科学院科技情报研究所, 广东 广州 510640)

**摘要:**以二花脸和杜洛克猪种为试验材料, 采用 real-time 定量 PCR 技术, 对猪 *ESR*、*RBP4*、*PRLR*、*INHA*、*SPP1*、*DPP4*、*P450arom*、*LHR*、*FSHR*、*FSH $\beta$* 、*GnRHR*、*EGF*、*PAPP-A*、*IGF1*、*NRP2*、*GDF9* 和 *SCG2* 等 17 个与繁殖性能相关基因在这 2 个猪种垂体、卵巢、子宫、输卵管 4 个组织中的表达差异进行研究. 结果显示在 17 个基因中有 15 个基因 (*ESR*、*RBP4*、*PRLR*、*INHA*、*DPP4*、*P450arom*、*FSHR*、*FSH $\beta$* 、*GnRHR*、*EGF*、*PAPP-A*、*IGF1*、*NRP2*、*GDF9* 和 *SCG2*) 在二花脸子宫中表达量均高于杜洛克子宫的表达量, 尤以 *RBP4* (相对定量结果为 123.35) 和 *ESR* (相对定量结果为 10.67) 表现最为明显; 而垂体除了 *ESR* 和 *GDF9* 在二花脸中表达量 (7.15 和 5.47) 明显比杜洛克高之外, 其余基因在二花脸中的表达量与杜洛克的基本差不多, 甚至表达量还少些 (如 *P450arom*、*LHR*、*IGF1*、*SPP1*、*RBP4*); 17 个基因在两猪种卵巢及输卵管的表达差异不明显. 结果提示二花脸猪高产仔性能是受多个基因综合作用的结果, 而且可能主要受子宫内基因表达水平的影响.

**关键词:**二花脸; 杜洛克; 繁殖; 基因表达差异

中图分类号: S813.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2008)02-0099-05

### Expression Differences in Genes Related to Reproduction Between Erhualian and Duroc Pigs

DU Hong-li<sup>1</sup>, CHEN Jing<sup>2</sup>, ZHANG Yu-shan<sup>2</sup>, CUI Jian-xun<sup>3</sup>, ZHANG Xi-quan<sup>2</sup>

(1 School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2 College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3 Sci-tech Information Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Real-time quantitative PCR was applied to analyze expression differences in genes related to reproduction between Erhualian and Duroc pigs. Seventeen genes (*ESR*, *RBP4*, *PRLR*, *INHA*, *SPP1*, *DPP4*, *P450arom*, *LHR*, *FSHR*, *FSH $\beta$* , *GnRHR*, *EGF*, *PAPP-A*, *IGF1*, *NRP2*, *GDF9* and *SCG2*) were analyzed in the present study in four tissues (pituitary, ovary, uterus and oviduct) of the two pig breeds. The results showed that the expression level of each of the 15 genes (*ESR*, *RBP4*, *PRLR*, *INHA*, *DPP4*, *P450arom*, *FSHR*, *FSH $\beta$* , *GnRHR*, *EGF*, *PAPP-A*, *IGF1*, *NRP2*, *GDF9* and *SCG2*) was higher in Erhualian uterus than in Duroc uterus. The relative amounts of *RBP4* and *ESR* were 123.35 and 10.67, respectively in Erhualian uterus, which were much higher than those (1.0) of the two genes in Duroc uterus. In pituitary, the relative amounts of *ESR* and *GDF9* were 7.15 and 5.47, respectively in Erhualian, which were higher than those (1.0) of the two genes in Duroc; the relative amounts of *P450arom*, *LHR*, *IGF1*, *SPP1* and *RBP4* were lower in Erhualian than those in Duroc; and the relative amounts of the other genes were almost the same in the two breed pigs. There was no significant difference in the relative amounts of the 17 genes in the ovary and oviduct tissues between Erhualian and Duroc. The results in the present study implied that the high fertility of Erhualian was probably due to complicated effect of many genes, and most parts were possibly affected by the expression of genes in

收稿日期: 2007-04-11

作者简介: 杜红丽 (1975—), 女, 博士; 通讯作者: 张细权 (1963—), 男, 教授, 博士, E-mail: xqzhang@scau.edu.cn

基金项目: 国家 973 项目 (G2000016102)

uterus tissue.

**Key words:** Erhualian; Duroc; reproduction; gene expression differences

猪的繁殖性状尤其是中国太湖猪的高产仔数性状一直受到全世界的瞩目。猪的繁殖过程包括卵泡和精子的发育成熟、排卵受精和受精卵在母体子宫内的发育等一系列过程,机体通过神经内分泌系统(如:下丘脑-垂体-卵泡轴)分泌各种激素对这些过程进行精确的调控。产仔数是限性性状,遗传力低(如产仔数的遗传力为0.1左右),导致选择差变小;又因到一定年龄才能表现,而且选择它须要依据3~4胎的记录,因此世代间隔较长,故常规方法对其进行选择收效甚微<sup>[1]</sup>。因此,如何提高猪的繁殖性状并对其进行快捷的测量,是长期以来困扰动物遗传育种学家的一个难题。现代分子生物学技术特别是分子标记辅助选择技术的出现为显著改良这类性状提供了一条新途径。为了有效地利用分子标记辅助选择,必须对控制该类性状的基因进行精确定位。目前,利用基因组扫描和候选基因2种数量性状位点(quantitative trait locus, QTL)定位的方法筛选出了一些影响猪繁殖性状的候选基因,但已被证明与产仔数显著相关的候选基因仅有 *ESR*、*RBP4*、*PRLR*、*FSH $\beta$* ,其他基因的遗传效应还需在不同的大群体和不同的多态位点中进一步验证。在 mRNA 水平检测基因表达差异也是辅助分离、定位繁殖候选基因的一条有效途径<sup>[2-4]</sup>。研究表明排卵率和子宫容量是决定猪产仔数高低的一个重要决定因素<sup>[5]</sup>,本试验利用繁殖性能差异极大的2个猪品种二花脸、杜洛克初步分析了 *ESR*、*RBP4*、*PRLR*、*INHA*、*SPP1*、*DPP4*、*P450arom*、*LHR*、*FSHR*、*FSH $\beta$* 、*GnRHR*、*EGF*、*PAPP-A*、*IGF1*、*NRP2*、*GDF9* 和 *SCG2* 等17个与繁殖性能相关基因在2个猪种发情期(排卵)的表达差异,从 mRNA 水平推测这些基因是否会影响产仔性能,并阐述这些基因影响产仔性能可能的分子机理,与此同时还可以推测二花脸高产仔性能可能的分子机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织样品

利用 P. G. 600 对广东长江食品集团有限公司种猪场健康无病的二花脸、杜洛克成年母猪(各15头)进行同期发情处理,其中有6头杜洛克、5头二花脸于同一时期发情。在发情期时屠宰并采集组织样,用消毒好的手术刀(剪)从刚屠宰的猪所需组织部位的

内部切(剪)下1~2g块状组织,装入经 DEPC 处理、高压灭菌的1.5 mL离心管内,作好标记后立即投入液氮中,之后于-80℃冰箱保存备用。11头猪中每头猪都采集了垂体、卵巢、子宫、输卵管4种组织样。

### 1.2 总 RNA 提取、检测和浓度测定

总 RNA 提取所用试剂为 Invitrogen 公司的 TRIZOL Reagent,具体操作步骤按试剂的指导说明书进行。

将2 $\mu$ L总RNA与3 $\mu$ L上样缓冲液混合,用10g/L琼脂糖凝胶、15V/cm电压电泳20min,电泳结束后,用紫外投射仪观察总RNA的完整性。

用紫外分光光度计测量每个总RNA样品质量浓度各3次,取平均值;根据所测定的质量浓度,每个样品取5~10 $\mu$ L总RNA原液,用DEPC水缓冲液稀释到终质量浓度为1 $\mu$ g/ $\mu$ L,稀释后再测量1次以确保质量浓度的准确性,并于-80℃保存备用。

### 1.3 总 RNA 的反转录

20 $\mu$ L反应体系中含有1 $\mu$ g总RNA,1 $\times$ MMLV Buffer,1mmol/L dNTPs,1.5 $\mu$ mol/L oligo(dT)18,0.5U RNase Inhibitor,100U MMLV 反转录酶,加入 RNase-free dH<sub>2</sub>O,混匀后于42℃温育40min,99℃5min灭活反转录酶,然后降温至10℃保存5min。反转录产物于-20℃保存备用。

### 1.4 荧光定量 PCR 引物设计与合成

根据以往的研究结果,利用 ABI 公司 Primer Express 2.0 软件对17个已验证或可能与繁殖性能相关的基因和1个管家基因  *$\beta$ -actin* 设计引物,设计引物参考的序列信息及引物序列等信息见表1,其中 *NRP2* 有2对引物,是因为 *NRP2* 有2种 mRNA 剪切形式。引物由上海博亚生物有限公司合成。

### 1.5 实时荧光定量 PCR

本试验采用 cDNA 池的方法<sup>[2-3]</sup>来检测17个基因在2个品种4个组织中的表达差异。前面已精确测定了总RNA的质量浓度,并稀释每个RNA样品至终质量浓度1 $\mu$ g/ $\mu$ L,而反转录时所用的每个样品总RNA的体积是相同的(1 $\mu$ L),因此本试验将6头杜洛克和5头二花脸的垂体反转录cDNA分别等体积混合,构成杜洛克的垂体cDNA池和二花脸的垂体cDNA池,依次类推,一共构建了8个cDNA池,分别为杜洛克垂体、杜洛克卵巢、杜洛克子宫、杜洛克输卵管、二花脸垂体、二花脸卵巢、二花脸子宫、二花脸输卵管cDNA池。

实时荧光定量 PCR 扩增:以上述 cDNA 池为模

板,每个 cDNA 池样品做 3 个重复,每次试验采用阳性对照 ( $\beta$ -actin, 判断仪器、试剂、操作是否存在问题,同时也利用  $\beta$ -actin 消除 RNA 抽提、浓度测定等方面可能造成的表达差异) 和阴性对照 (判断系统是否存在污染)。

25  $\mu$ L PCR 反应体系中含有 1  $\mu$ L cDNA 模板, 0.4  $\mu$ mol/L 引物 (each), 12.5  $\mu$ L SYBR Green Real-time PCR Master Mix. 反应程序为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 1 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 15 s, 合适温度 (表 1) 退火 15 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 40 个循环. 反应结束后, 对数据进行处理, 以获得各样品的数据。

表 1 用于定量分析的引物

Tab. 1 Primer pairs for quantitative PCR analyses

基因 gene	引物序列 (上游引物/下游引物; 5'→3')	参考序列接收号	退火温度	片段大小
	primer sequences (forward primer/ reverse primer; 5'→3')	accession number of reference sequence	annealing temperature/ $^{\circ}$ C	fragment size/ bp
ESR	GAATGGTGATCACACAACCC/TCAGGGACATCATCATGGAG	AF164957	57	155
RBP4	ATCGACACGGACTATGACA/GCCTCTGCCTCACAAATTTTC	NM_214057	58	148
PRLR	ACATCCTGGTGTAGTGCAG/ATCGAGGTAATCCAGCCCAC	AY308826	57	173
INHA	TCACATATGTATTCCGGCCG/ACAGGACCCTGGATGATAG	NM_214189	58	157
SPP1	ACGTGGCTTCTGACTTGGAC/GAATGCTCATTGCTCCCATC	NM_214429	58	139
DPP4	AGCTAGCTTTGATGGCAGAG/TTGCAATCCGCTTGTCATC	AY198323	55	152
P450arom	AGGAGGTCCGCAATGACTTG/AGGAGAGCTTGCCATGCATC	NM_214429	56	157
LHR	CCCATCTCAAGCTTTCAGAG/GCTCCAGGCTCAATATACAC	NM_214449	58	162
FSHR	AGCGTATGGCCATGCTCATC/ATAGAGGAAGGGTTGGCAC	NM_214386	58	164
GnRHR	ACTTGACTCTAGCCAACCTG/GGCTAATCACACCACATCATG	NM_214273	56	165
EGF	GGAAGACATCTCTCAGCCAC/AATTGTTATTCCGCTGGGCC	NM_214020	58	166
PAPP-A	CATAAGTTCTGTGGTGACCC/AGGTAACAGTGCAATCTGGC	AF421142	56	152
IGF1	TGCACATCACATCCTCTTCG/GTACCCTGTGGCTTGTGTA	NM_214256	58	167
NRP2-1	GTGTTTCGAGGGAGTTATCCG/CTTCTCCTTGTCAGCCAGAG	BX916214	55	246
NRP2-2	GTGTTTCGAGGGAGTTATCCG/GGCGGCCATAACGTAATACC	BX915163	58	204
FSH $\beta$	TTTGCTTCTATTCTGTTGC/CGTGGTGTGATGCTTATGC	NM_213875	55	116
SCG2	GAAATCGTGGAGGAACAGTA/CTCCTCATCAACCCTCTCAC	AY870646	55	116
GDF9	AAGTCACCTCTACAACACTGT/AGCAGTAACACGATCCAGGTT	AY649444	57	127
$\beta$ -actin	CCACGAAACTACCTTCAACTC/TGATCTCTCTGCATCCTGT	AY550069	55~58	131

由于 SYBR Green 荧光染料具有与双链 DNA 非特异性结合的特性, 因此 PCR 产物只要有双链 DNA 存在, 而无论其序列如何, SYBR Green 荧光染料都可以与之结合, 并使之发出荧光, 因此, 为鉴别 SYBR Green 荧光染料定量 PCR 反应的特异性, 需要进行熔解曲线分析. 另外还可对 PCR 反应液进行琼脂糖凝胶电泳检测, 若得到 1 条特异性扩增带, 也说明反应的特异性好, 无杂带产生。

### 1.6 实时荧光定量数据分析统计

$C_T$  值 (样本的域值循环数) 是荧光定量 PCR 中常用的参数, 要求在 15~30 个循环有效. 本试验采用  $\Delta\Delta C_T$  法来度量 17 个基因在二花脸和杜洛克 4 个组织中的表达差异, 具体做法是将每个样品每个基因的平均  $C_T$  值减去对应样品的  $\beta$ -actin 平均  $C_T$  值得到每个样品每个基因的  $\Delta C_T$  值, 然后分别以杜洛克的 4 个组织作为参照, 将二花脸和杜洛克各组织

样的  $\Delta C_T$  值减去杜洛克相应组织样的  $\Delta C_T$  值得到  $\Delta\Delta C_T$  值, 最后将每个组织相对杜洛克参照组织的表达量表示为  $2^{-\Delta\Delta C_T}$ .

## 2 结果与分析

### 2.1 总 RNA 提取结果

本试验采用 TRIZOL 试剂从 11 头猪的垂体、卵巢、子宫、输卵管组织中提取总 RNA 进行基因表达差异研究. 总 RNA 样经琼脂糖凝胶电泳检测, 都有 3 条清晰的条带 (28S、18S 和 5S), 表明抽提的总 RNA 完整性较好; 经紫外分光光度计测定, 所提取的总 RNA 的质量浓度均为 3~15  $\mu$ g/ $\mu$ L,  $D_{260\text{ nm}}/D_{280\text{ nm}}$  均为 1.8~2.0, 表明总 RNA 无蛋白质和 DNA 污染; 因此所提取的总 RNA 质量完好, 可用于后续研究。

### 2.2 17 个基因实时荧光定量结果及差异表达分析

本试验采用  $\Delta\Delta C_T$  法度量 17 个基因在二花脸和

杜洛克垂体、卵巢、子宫和输卵管 4 个组织中的表达差异,各个组织相对杜洛克的表达量  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  见表 2.

表 2 以杜洛克猪为参照各基因在二花脸猪 4 个组织中  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  值

Tab. 2 The  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  values of gene expression in the four tissues of Erhualian compared with Duroc pigs

基因 gene	垂体 pituitary	卵巢 ovary	子宫 uterus	输卵管 oviduct	4 个组织平均 average of four tissues	杜洛克参照 <sup>1)</sup> Duroc control
<i>SPP1</i>	0.09	1.15	0.90	0.57	0.49	1
<i>IGF1</i>	0.13	0.74	2.31	0.39	0.54	1
<i>LHR</i>	0.32	2.21	0.69	1.17	0.87	1
<i>P450arom</i>	0.64	0.12	2.87	0.32	0.51	1
<i>SCG2</i>	1.56	0.82	1.49	0.98	1.21	1
<i>FSH<math>\beta</math></i>	1.44	1.10	1.86	1.65	1.51	1
<i>ESR</i>	7.15	3.41	10.67	4.28	5.77	1
<i>FSHR</i>	1.81	0.65	3.37	2.30	1.74	1
<i>EGF</i>	1.94	2.29	6.90	1.99	2.80	1
<i>PAPP</i>	2.07	3.63	5.62	0.55	2.19	1
<i>DDP4</i>	0.96	1.17	4.70	1.72	1.74	1
<i>GDF9</i>	5.47	1.95	7.49	1.61	4.13	1
<i>NRP2-1</i>	1.00	1.11	1.82	1.96	1.41	1
<i>NRP2-2</i>	0.88	1.64	2.65	1.82	1.62	1
<i>GnRHR</i>	1.22	2.65	3.09	3.09	2.35	1
<i>INHA</i>	0.96	0.98	1.18	1.58	1.15	1
<i>PRLR</i>	1.08	2.07	1.73	1.75	1.61	1
<i>RBP4</i>	0.20	0.75	123.35	1.85	0.20	1

1) 杜洛克垂体、卵巢、子宫、输卵管和 4 个组织平均参照的  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  值均为 1

从总体平均表达水平(4 个组织平均)来看,除了 *P450arom*、*LHR*、*IGF1*、*SPP1* 4 个基因在二花脸中的表达水平低于杜洛克之外,其余 13 个基因在二花脸中的表达水平均高于杜洛克,尤以 *ESR* 基因在 2 个品种中的表达差异最大.

各个组织分开来看,发现 17 个基因中有 15 个基因 (*ESR*、*RBP4*、*PRLR*、*INHA*、*DPP4*、*P450arom*、*FSHR*、*FSH $\beta$* 、*GnRHR*、*EGF*、*PAPP-A*、*IGF1*、*NRP2*、*GDF9* 和 *SCG2*) 在二花脸子宫中表达量均高于杜洛克子宫的表达量,尤以 *RBP4* (相对定量结果为 123.35) 和 *ESR* (相对定量结果为 10.67) 表现最为明显;而垂体除了 *ESR* 和 *GDF9* 基因在二花脸中表达量(7.15 和 5.47) 比杜洛克高很多之外,其余基因在二花脸中的表达量与杜洛克的基本差不多,甚至表达量还少些(如 *P450arom*、*LHR*、*IGF1*、*SPP1*、*RBP4*);卵巢及输卵管在两猪种间的表达差异没有规律.

### 3 讨论

梅山猪高产主要是由于其排卵率和出生前存活率高. 怀孕早期(妊娠 25 d 前)的胚胎存活及后期(妊娠 30 d 到分娩)的子宫容量是影响出生前存活

率的主要因素<sup>[5]</sup>. 二花脸与梅山猪十分相似,都是太湖猪种,本试验利用 real time 定量 PCR 和 cDNA 池检测了发情期(排卵)二花脸和杜洛克的基因表达差异,17 个基因中有 15 个基因 (*ESR*、*RBP4*、*PRLR*、*INHA*、*DPP4*、*P450arom*、*FSHR*、*FSH $\beta$* 、*GnRHR*、*EGF*、*PAPP-A*、*IGF1*、*NRP2*、*GDF9* 和 *SCG2*) 在二花脸子宫的表达量均高于杜洛克子宫的表达量,尤其是 *RBP4* (相对定量结果为 123.35) 和 *ESR* (相对定量结果为 10.67) 表现得最为明显,为二花脸怀孕做好充分准备. *ESR* 是雌激素受体,雌激素须与其结合后才能发挥生理功能. 已有研究表明基因 *ESR* Pvu II 多态性与产仔数显著相关<sup>[6-8]</sup>. 本研究发现发情期二花脸的垂体、卵巢、子宫、输卵管中基因 *ESR* 的表达量均明显高于杜洛克相应组织的表达量,尤其子宫表现得最为明显,这为基因 *ESR* 提高二花脸猪产仔数提供了 mRNA 水平上的证据. *RBP4* 是血液中视黄醇的特定载体,在猪妊娠的一个关键时期表达,给妊娠母猪补充维生素 A 可以提高产仔数,有些研究发现基因 *RBP4* 影响产仔数<sup>[9-10]</sup>. 目前对基因 *RBP4* 的表达调控机制仍不清楚,本研究的结果显示 *RBP4* 在发情期二花脸子宫的表达量比杜洛克显著高出许多,暗示 *RBP4* 对二花脸早期胚胎的存活可能有一定促

进作用,但其原理和机制还需进一步研究.另外,*NRP2*是华南农业大学动物遗传实验室研究所得到的可能与繁殖性状相关的基因,被定位在猪15号染色体排卵率QTL区间<sup>[11]</sup>,其与产仔性状的相关性还在进一步的验证研究中.*NRP2*的2种mRNA剪切形式在二花脸的卵巢、子宫、输卵管3个组织的表达水平都比杜洛克相应组织的表达水平高,而在垂体的表达水平差异不大,因此*NRP2*表达水平高可能对提高产仔数有利.

从本试验的研究结果可以看出,二花脸猪高产仔性能是受多个基因综合作用的结果,而且可能主要受子宫基因表达差异的影响<sup>[12-13]</sup>.虽然本试验只研究了发情期这一阶段14个基因在二花脸和杜洛克2个猪品种4个组织中的表达差异,但可以推测在其他影响产仔数的关键阶段二花脸和杜洛克猪中也有许多的基因表达存在明显差异,这些基因的表达差异是由基因本身的碱基变异所致还是由其他基因的变异所引起,要寻找这些数量性状核苷酸(quantitative trait nucleotide, QTN)并弄清楚这些QTN如何影响基因表达或基因功能从而影响产仔性状是一个复杂的系统工程,这需要坚持不懈的研究与积累,相信现代生物学和统计学的发展会大大加快猪产仔数基因的定位及其复杂分子机理的阐明,从而使得利用分子标记辅助选择快速改良猪的繁殖性状成为现实.

#### 参考文献:

- [1] JOHNSON R K, NIELSEN M K, CASEY D S. Responses in ovulation rate, embryonal survival, and litter traits in swine to 14 generations of selection to increase litter size [J]. *J Anim Sci*, 1999, 77(3):541-557.
- [2] GLADNEY C D, BERTANI G R, JOHNSON R K, et al. Evaluation of gene expression in pigs selected for enhanced reproduction using differential display PCR and human microarrays: I. Ovarian follicles [J]. *J Anim Sci*, 2004, 82(1):17-31.
- [3] BERTANI G R, GLADNEY C D, JOHNSON R K, et al. Evaluation of gene expression in pigs selected for enhanced reproduction using differential display PCR: II. Anterior pituitary [J]. *J Anim Sci*, 2004, 82(1):32-40.
- [4] BERTANI G R, JOHNSON R K, ROBIC A, et al. Mapping of porcine ESTs obtained from the anterior pituitary [J]. *Anim Genet*, 2003, 34(2):132-134.
- [5] CHRISTENSON R K, VALLET J L, LEYMASTER K A, et al. Uterine function in Meishan pigs [J]. *J Reprod Fertil*, 1993, 48(Suppl):279-289.
- [6] ROTHSCHILD M F, JACOBSON C, VASKE D, et al. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(1):201-205.
- [7] SHORT T H, ROTHSCHILD M F, SOUTHWOOD O I, et al. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines [J]. *J Anim Sci*, 1997, 75(12):3158-4249.
- [8] 陈克飞,黄路生,李宁,等.猪雌激素受体(ESR)基因对产仔数性状的影响 [J]. *遗传学报*, 2000, 27(10):853-857.
- [9] MESSER L, WANG L, LEGAULT C, et al. Mapping and investigation of candidate genes for litter size in French Large White pigs [J]. *Anim Genet*, 1996, 27(Suppl 2):114.
- [10] ROTHSCHILD M F, MESSER L, DAY A, et al. Investigation of the retinal-binding protein1 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs [J]. *Mamm Genom*, 2000, 11:75-77.
- [11] DU Hong-li, CHEN Jing, CUI Jian-xun, et al. Radiation hybrid mapping and sequence analysis of 21 genes on porcine chromosome 15 [J]. *Anim Genet*, 2006, 37(2):181-183.
- [12] VONNAHME K A, FORD S P. Differential expression of the vascular endothelial growth factor-receptor system in the gravid uterus of yorkshire and Meishan pigs [J]. *Biol Reprod*, 2004, 71(1):163-169.
- [13] VALLET J L, FREKING B A, LEYMASTER K A, et al. Allelic variation in the erythropoietin receptor gene is associated with uterine capacity and litter size in swine [J]. *Anim Genet*, 2005, 36(2):97-103.

【责任编辑 柴 焰】