

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00060

# 大肠杆菌F18 菌株敏感和抵抗基因型仔猪十二指肠基因表达谱差异分析

包文斌<sup>1,3,4</sup>, 叶兰<sup>1</sup>, 潘章源<sup>1</sup>, 朱璟<sup>1</sup>, 杜子栋<sup>2</sup>, 蔡家嘉<sup>1</sup>, 黄小国<sup>3,4</sup>, 朱国强<sup>2,3,4</sup>, 吴圣龙<sup>1,3,4</sup>

1. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009;
2. 扬州大学兽医学院, 扬州 225009;
3. 江苏省现代猪种分子选育工程技术研究中心, 常州 213149;
4. 江苏(扬州)规模猪场高效健康养殖公共技术服务中心, 扬州 225009

**摘要:** 文章运用 Agilent 双标记表达谱芯片, 基于已建立的苏太猪大肠杆菌 F18 菌株敏感性和抗性型全同胞配对个体, 分析十二指肠组织基因表达谱差异, 旨在筛选导致仔猪断奶后腹泻和水肿病发生的大肠杆菌 F18 菌株受体相关基因, 探讨造成大肠杆菌病抗性和敏感性资源家系抗性差异的分子生物学机理。研究结果显示, 以 Fold change 绝对值大于 2 倍进行筛选, 在敏感型(GG 基因型)对抗性型(AA 基因型)配对组中, 差异基因共 13 个, 其中上调 6 个, 下调 7 个, 在以敏感型(AG 基因型)对抗性型(AA 基因型)配对组中, 共筛选出差异基因 6 个, 其中上调 4 个, 下调 2 个。经 GO 分析发现差异基因的生物学过程主要涉及免疫应答、胞外区修饰(如糖基化)、细胞黏附、信号转导等。通路发现大肠杆菌 F18 菌株抵抗性和敏感性差异基因主要涉及糖脂合成代谢以及炎症免疫相关通路, 经芯片筛选出的相关基因的功能还需进一步的研究验证。

**关键词:** 猪; 大肠杆菌F18 菌株; 基因芯片; 基因表达谱

## cDNA microarray on differently expressed genes in duodenum in porcine sensitive or resistant to *Escherichia coli* F18

BAO Wen-Bin<sup>1,3,4</sup>, YE Lan<sup>1</sup>, PAN Zhang-Yuan<sup>1</sup>, ZHU Jing<sup>1</sup>, DU Zi-Dong<sup>2</sup>, CAI Jia-Jia<sup>1</sup>, HUANG Xiao-Guo<sup>3,4</sup>, ZHU Guo-Qiang<sup>2,3,4</sup>, WU Sheng-Long<sup>1,3,4</sup>

1. Animal Science and Technology College, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
2. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China;
3. Jiangsu Engineering Research Centre for Molecular Breeding of Breeder Pig, Changzhou 213149, China;
4. Jiangsu (Yangzhou) Public Technical Service Centre for Efficient and Healthy Culture Technology in Large-scale Swine Farms, Yangzhou 225009, China

**Abstract:** Based on the paired full-sib individuals selected from the established resource populations of Suta pig that were characterized as resistant or sensitive to ETEC F18, Agilent double labeled cDNA microarray was used to identify the gene expression profiles in duodenum on purpose of investigating the genes related to *Escherichia coli* F18 receptor, which may cause edema disease and post-weaning diarrhea in piglets, as well as exploring the molecular mechanism about the differences involved in two different lineages. The results showed that thirteen differently expressed genes were found in

收稿日期: 2010-06-11; 修回日期: 2010-09-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30972089), 转基因生物新品种培育科技重大专项(编号: 2009ZX08006-004B)和江苏省科技支撑计划(农业)项目(编号: BE2008364, BE2009330-2)资助

作者简介: 包文斌(1974-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 猪遗传育种。Tel: 0514-87979350; E-mail: wbbao@yzu.edu.cn

通讯作者: 吴圣龙(1963-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 猪遗传育种。Tel: 0514-87979316; E-mail: slwu@yzu.edu.cn

one matched group including sensitive ones with GG genotype comparing with resistant ones with AA genotype at a two-fold filter, where there were 6 up-regulated genes and 7 down-regulated genes. In the other matched group composed of sensitive ones with AG genotype, 4 up-regulated genes and 2 down-regulated genes, 6 in total were screened out. GO analysis revealed that the differently expressed genes participated in many biological processes, such as immune response, extracellular region, bacterial binding, response to external stimulus and so on. Meanwhile, these genes were mainly related to the Glycan Biosynthesis and Metabolism and Immune System pathways. Actually, the roles that they may play in edema disease and post-weaning diarrhea need further study and verification.

**Keywords:** porcine; *Escherichia coli* F18; gene chip; gene expression profile

仔猪断奶后腹泻(Porcine post-weaning diarrhea, PWD)和水肿病(Porcine edema disease, ED)对养猪业造成巨大的危害和损失。肠毒素性大肠杆菌 F18(Enterotoxigenic *Escherichia coli* F18, ECF18)菌株是引起这两种疾病的主要病原菌。ETEC F18 病原依靠其菌毛粘附在仔猪小肠上皮细胞表面,与猪小肠粘膜上皮细胞刷状缘 F18 受体结合,进而定居繁殖并产生肠毒素,引起仔猪发病,因此ETEC F18 能否致病决定于仔猪小肠黏膜上皮细胞刷状缘有无受体<sup>[1]</sup>。现有研究表明 $\alpha$ -(1,2)岩藻糖转移酶基因 1(*FUT1*)是控制ETEC F18 粘附的候选基因,*FUT1* 基因 M307 处存在 G/A 突变位点,并且 G 对 A 为显性,即 AA 基因型猪对大肠杆菌 F18 菌株表现为抗性,GG 型和 AG 型表现为敏感性<sup>[2,3]</sup>。Meijerink 以此为标记实施抗性育种,美国的 ARS(Agricultural Research service)买断该成果并申请专利(专利号: 443766),同时进行大规模产业化生产,且于 1999 年 7 月宣布在大约克品系中育成该病的抗性猪。

在国外宣布育成大约克品系抗大肠杆菌 F18 菌株新品系后,国内针对中国地方猪种 *FUT1* 基因的研究开始成为热点,国内许多学者分别在对杜洛克、皮特兰、约克夏、长白猪和汉普夏 5 个外来猪种和几十个国内地方猪种 *FUT1* 基因 M307 位点的研究中发现:所有的中国地方猪种中同样均未检测到 AA 型个体,而且除临高猪外,所有的国内地方猪种也均未检测到 AG 型个体,全部为 GG 型,呈极端偏态分布,而外来猪种中 *FUT1* 基因 M307 位点具有多态性,均检测到 AA 基因型<sup>[4~7]</sup>。本课题组也系统研究了国内外部分猪种(其中包括 18 个国内地方猪种、1 个培育猪种和野猪) *FUT1* 基因 M307 位点的多态性,发现群体中 AA 基因型(抗性型)个体占少数且只出现

在外来猪种中<sup>[8,9]</sup>。现有的研究结果都显示: *FUT1* 基因 M307 位点在外来猪种以及含外血的杂交培育品种中具有多态性,但在中国地方猪种中尚未发现 AA 基因型甚至 AG 基因型存在。这就充分表明: 国外猪种的大肠杆菌 F18 菌株抗性遗传基础与国内地方猪种的大肠杆菌 F18 菌株抗性遗传基础确实存在着明显的差异,适用于国外猪种的 *FUT1* 基因 M307 遗传标记并不能同样适合于中国地方猪种。

苏太猪是由杜洛克与太湖猪杂交培育的优质瘦肉型猪新品种,在前期研究中,我们利用苏太猪群体中检测到的少量(约 10%左右) *FUT1* 基因 AG 型个体进行适当选种选配,得到了宝贵的苏太猪 *FUT1* 基因 AA 型(大肠杆菌病抗性型)个体。通过 5 年的不断选育,目前已经在苏太猪中建立了大肠杆菌病抗性(AA 型)和敏感性(AG 和 GG 型)资源家系群体,规模均达 200 头以上,与此同时,我们还构建了基于表达大肠杆菌 F18 菌株黏附素的 V 型分泌系统,运用 V 型分泌系统展呈功能性黏附素和受体结合试验技术,对资源家系群体大肠杆菌 F18 菌株抗性/易感性进行了进一步的分析和验证<sup>[10]</sup>。

基因表达谱(Gene expression profiling)芯片可以筛选不同群体的差异基因,高通量地分析基因 mRNA 表达量,利用表达谱芯片进行功能基因组学研究也是目前最为活跃的研究领域之一,被用来发现重要基因,了解代谢途径和解读代谢机制。本研究基于建立的大肠杆菌 F18 菌株抵抗性(AA 型)和敏感性(AG 和 GG 型)资源家系,利用基因表达谱芯片对猪大肠杆菌 F18 菌株抗性候选基因进行分析和筛选,以期揭示中国地方猪种抗大肠杆菌 F18 菌株的遗传基础,解决国内地方猪种大肠杆菌 F18 菌株抗性育种的关键科学问题。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

在相同环境下饲养的苏太猪大肠杆菌 F18 菌株抗性型和敏感型资源家系群体中, 选取 8 个全同胞家系, 检测 8 个家系中所有仔猪的 *FUT1* 基因型。在仔猪断奶前后, 也是最易感染大肠杆菌 F18 菌株而表现出腹泻症状的 28 日龄阶段, 分别从同一个家系中筛选出初生重、断奶重和体形基本一致的抗性型(AA 基因型)和敏感型(AG 或 GG 基因型)全同胞个体各 1 个, 作为一组配对的实验组。利用课题组建立的 V 型分泌系统展呈功能性黏附素和受体结合试验技术, 对 AA 基因型和 AG、GG 基因型的大肠杆菌 F18 菌株抗性/易感性进行了进一步的分析和验证(具体方法见参考文献[10])。根据 8 个家系所有仔猪的检测结果, 整个实验材料由 4 对 GG 型和 AA 型, 4 对 AG 和 AA 型全同胞个体的独立配对实验组组成。屠宰后采集个体的十二指肠组织, 现场液氮保存, 然后转移至-70 °C 冰箱。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 组织 RNA 的提取

按照 Trizol (Invitrogen, Gaithersburg, MD, USA) 一步法提取组织中的总 RNA, 通过异丙醇沉淀法浓缩 RNA, 并进一步采用 QIAGEN RNeasy® Kit 试剂盒对总 RNA 进行过柱纯化, 最后用 Nanodrop ND-1000 分析 RNA 浓度, Agilent BioAnalyzer 2100 进行质量检测。

#### 1.2.2 cDNA 探针制备和荧光素标记

mRNA 的反转录、cDNA 的纯化、cRNA 的合成、纯化、荧光标记、荧光标记的 cRNA 样品纯化等均按照相应的试剂盒说明书进行。其中, Cy3 标记敏感型个体, Cy5 标记抗性型个体, 标记反应结束后, 经紫外分光光度计检测 cRNA 的浓度, 在 550 nm 和 650 nm 波长下分别检测 Cy3 和 Cy5 浓度并计算二者的掺入率。最后进行 cRNA 的片段化和芯片杂交, 所用芯片为 Agilent 猪 4\*44K 双标记表达谱芯片, 每对全同胞配对组使用一张芯片, 芯片由上海生物芯片有限公司提供。

#### 1.2.3 芯片扫描与分析

经严格洗片后的杂交芯片用 Agilent 扫描仪进行扫描, 采用 GenePix Pro 4.0 图像分析软件对芯片图像进行分析, 把图像信号转化为数字信号; 然后对芯片上的数据用 Lowess 方法进行归一化, 计算基因 ratio 值  $Cy3/Cy5$ ; 最后以差异为两倍的标准来确定差异表达基因。对于筛选出的差异表达基因的分析借助于 GenBank 数据库、KEGG 数据库、GO 数据库。

## 2 结果与分析

### 2.1 所获取样本进行大肠杆菌 F18 株感染状态的检测结果

小肠上皮细胞黏附实验的结果表明, M307<sup>AA</sup> 基因型的抗性型断奶仔猪小肠上皮细胞对大肠杆菌的黏附能力几乎为零, 而 M307<sup>GG</sup> 基因型或 M307<sup>AG</sup> 基因型的敏感型断奶仔猪小肠上皮细胞均能与表达 F18ab 菌毛标准菌株 107/86 发生黏附作用(图 1)。

### 2.2 芯片杂交结果

使用 Agilent 2100 生物分析仪鉴定样品的 RNA 质量, 抽提的总 RNA 质量符合实验要求。芯片结果的标准可以由像素点的信号强度、检出率、质控标准等进行衡量。芯片结果经 Agilent 软件分析得出转录产物状态的检测值, 包括 P(Present 探针点有信号, 且信号值可信)、A(Absent 探针点无信号)和 M(Marginal 探针信号饱和, 或信号值可疑)。Flag 不包含 A 的点为检出点, 而检出点总数与全部探针数的比值为该芯片的检出率, 即被检出的基因数目占芯片上总基因数的百分比。在 Agilent 表达谱芯片实验中, 用重复探针点(10 次重复)信号的 CV 值来计算芯片的稳定性和技术的稳定性, 根据不同的芯片, 这样的探针点从 20 到 100 个不等。Agilent 建议的质控标准是 CV 值小于 15%。表 1 的结果表明基因芯片的检测结果可靠。

经软件分析后, 得到芯片杂交的散点图, Y 轴代表 Cy3 的杂交信号强度, X 轴代表 Cy5 的杂交信号强度, 每张芯片上的点均与其相应的散点图上的点一一对应。图 2 是一张 AG 和 AA 两个全同胞个体独立配对组基因芯片散点图, 如图所示, 夹在斜率为 2 和 1/2 的直线之间的点被认为表达水平没有明显差

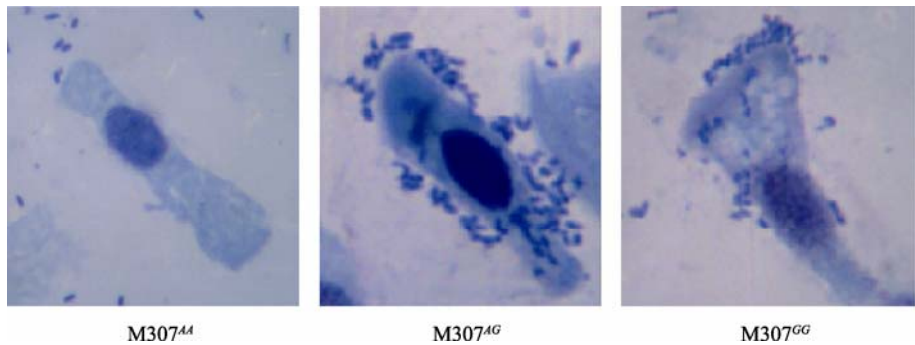


图 1 M307<sup>AA</sup>、M307<sup>AG</sup> 和 M307<sup>GG</sup> 基因型断奶仔猪小肠上皮细胞对表达 F18ab 菌毛的标准菌株 107/86 黏附能力

表 1 基因芯片质控参数及检出率

样品名称 /Cy3	样品名称 / Cy5	Cy3_CV	Cy5_CV	质控标准	检出率
512GG	524AA	7.97%	5.44%	15%	75.05%
2134GG	2129AA	5.58%	5.57%	15%	76.56%
2383GG	2385AA	5.07%	3.80%	15%	76.00%
2383GG	2387AA	5.29%	4.76%	15%	77.19%
2381AG	2391AA	5.76%	5.21%	15%	76.86%
5152AG	302AA	4.73%	4.56%	15%	76.06%
5377AG	5156AA	4.61%	4.01%	15%	73.26%
5381AG	5379AA	4.84%	4.53%	15%	76.19%

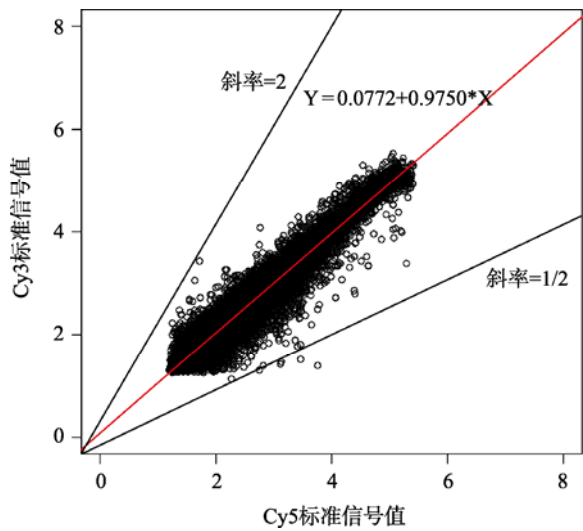


图 2 AG 和 AA 一对配对组基因表达谱散点图

异, 而偏离这两根直线的点则意味着表达水平有差异。图中大部分点分布在斜率接近为 1 的 45°角直线附近, 说明是没有差异的点; 只有 5 个点位于直线外, 为有差异的点。

2.3 芯片筛选出的差异基因

根据芯片差异基因筛选原则和本实验分组设计, 分别对 4 组 GG 和 AA, 4 组 AG 和 AA 配对组统计基因表达的均值差异, 以 Fold change 绝对值大于 2 倍进行筛选, 在敏感型(GG 基因型)对抗性型(AA 基因型)配对的组中, 差异基因共 13 个, 其中上调 6 个, 下调 7 个, 在另外以敏感型(AG 基因型)对抗性型(AA 基因型)配对的组中, 共筛选出差异基因 6 个, 其中上调 4 个, 下调 2 个, 详见表 2 和表 3。芯片检测在敏感型(AG 基因型)对抗性型(AA 基因型)中同样筛选出了 *FUT1* 基因, 为下调基因, 即抗性型个体中表达量较高, 但 Fold change 绝对值仅为 1.3098。

表 2 大肠杆菌 F18 菌株敏感性(GG 基因型)对抗性(AA 基因型)个体相关差异基因

基因序列号	基因名称	差异倍数	基因描述
396713	A	4.6695	血型 A 转移酶
100037927	LOC100037927	2.9721	免疫球蛋白 VDJ 区
100037923	LOC100037923	2.6526	免疫球蛋白 VDJ 区
100135681	CXCL9	2.4141	趋化因子配体 9
100037288	SLA-3	2.1076	MHC I 类抗原 3
396915	EDN1	2.0899	内皮素-1
100127469	BDKRB1	-2.5547	缓激肽受体 B1
100037293	SLA-1	-2.5185	MHC I 类抗原 1
397265	S100G	-2.3131	钙结合蛋白
396881	LOC396881	-2.2847	纤维胶凝蛋白
397030	FTTH1	-2.2902	铁蛋白
751862	DMBT1	-2.1216	恶性脑瘤缺失蛋白 1
414392	RPS17	-2.1196	核糖体蛋白 S17

注: “-” 表示下调倍数。

表 3 大肠杆菌 F18 菌株敏感性(AG 基因型)对抗性(AA 基因型)个体相关差异基因

基因序 列号	基因名称	差异倍数	基因描述
397087	SPP1	2.4726	分泌型磷酸蛋白 I
733662	LOC733662	2.2701	凝集因子 X
396661	CD3D	2.263	CD3D 分子
397198	SFTPD	2.0708	表面活性蛋白 D
445537	ST3GAL1	-2.8514	β-半乳糖苷 α-2,3- 唾液酸转移酶
414392	RPS17	-2.0073	核糖体蛋白 S17

注:“-”表示下调倍数。

2.4 差异基因分析

经 GO 分析可知,在已知功能的基因中,这些差异表达的基因涉及免疫应答、胞外区修饰(如糖基化)、细胞黏附、信号转导、转录调控、代谢等多个方面。通过 KEGG 数据库查询敏感型对抗性型差异基因所在通路,并进行超几何分布统计分析,通过  $P$  值( $P<0.05$ )选择有意义的目标通路,主要包括两大类通路:有关糖脂的通路以及与炎症免疫相关的通路,具体见表 4 和表 5。一般来说,每个 GO 或通路均只包含几个发生表达变化的基因,而每个表达变化的基因通常不局限于一个 GO 或通路。

表 4 糖脂相关通路

通路名称	富集度 $P$ 值	$q$ 值	通路涉及 相关基因
糖聚糖生物合成- 硫酸角质	0.0034	0.0019	ST3GAL1
O-聚糖生物合成	0.0061	0.0019	ST3GAL1
鞘糖脂生物合成-球系列	0.0061	0.0019	ST3GAL1
鞘糖脂生物合成-节系列	0.0067	0.0019	ST3GAL1
鞘糖脂生物合成-乳系列	0.0186	0.0019	A

表 5 炎症与免疫相关通路

通路名称	富集度 $P$ 值	$q$ 值	通路涉及相 关基因
抗原递呈与表达	0.0029	6.0E-4	SLA-3
自然杀伤性细胞介导 的细胞毒性作用	0.0042	7.0E-4	SLA-1、 SLA-3
T 细胞受体信号通路	0.0423	0.0046	CD3D
Toll 样受体信号通路	0.0456	0.0046	CXCL9

3 讨论

本研究在试验设计中采用了具有极端表型资源家系的全同胞个体,并且采用小肠上皮细胞黏附试验体系对每个个体对大肠杆菌 F18 株感染状态进行了进一步的检测和验证,个体间除了基于 *FUT1* 基因鉴定的对大肠杆菌 F18 菌株敏感性不同外,最大可能地保证了饲养环境、体重、毛色、生长性能等因素的一致性,因此,本实验结果中通过基因芯片筛选出的差异基因数量较少,筛选出的差异基因与研究目的的吻合度较高,并且差异基因的功能可以很好地解释相关的生物学现象和规律。

ETEC的致病性取决于它们在宿主小肠上皮细胞表面的定居能力和产生肠毒素的能力。遗传学相关研究表明,ETEC粘附素介导的细菌对仔猪吸附定植能力,决定于仔猪小肠上皮细胞有无特异性粘附素受体。Bertschinger等<sup>[11]</sup>提出水肿病是由于大肠杆菌F18 菌株所产生的毒素与受体结合所致。Mouricout等<sup>[12]</sup>认为F18 受体的生化结构与K88(F4)、K99(F5)类似,是糖蛋白及糖胶物。Meijerink等<sup>[2]</sup>也认为黏附是通过调节糖基转移酶来控制的。Imberechts等<sup>[13]</sup>则报道了引起水肿病的毒素受体:胞-四糖基神经酰胺,半乳糖基糖苷酯和 胞-三糖基神经酰胺,三者均属于糖脂类。Linggood 等<sup>[14]</sup>研究表明,大肠杆菌F18 菌株菌毛为柔软细丝状物,可介导细菌对小肠上皮细胞的黏附,使得细菌可在肠道中定居并大量繁殖,通过产生毒素来改变肠细胞的功能,继而致病。ETEC产生的肠毒素包括热敏肠毒素(Heat-labile toxin, LT)和耐热肠毒素(Heat-stable toxin, ST),两种肠毒素进入肠道后,与肠壁上皮细胞受体GM1 结合,分别激活肠壁上皮细胞的腺苷酸环化酶和鸟苷酸环化酶,使胞浆中的cAMP和cGMP水平上升。cAMP和cGMP均能引起肠腺细胞分泌增强,使大量液体集聚于小肠内,出现仔猪腹泻和水肿症状。肠毒素能否发挥作用的关键在于肠壁上皮细胞受体GM1 的存在。GM1 称为神经节苷脂,是含有一个唾液酸的鞘糖脂。神经节苷脂自身是一种抗原,也是一种免疫抑制物,它的缺失或过表达都将导致免疫系统的疾病。

根据以上报道,研究 PWD 和 ED 疾病的发生需从受体本身角度出发,而 *FUT1* 基因本身编码的



是  $\alpha$ -(1,2)岩藻糖转移酶, 该酶可以催化特定的糖基化反应, 反应产生的聚糖就有可能作为抗原发挥作用。芯片结果显示, 差异表达最显著的两个基因 *A* 基因和 *ST3GAL1* 基因都直接参与了糖脂的合成与代谢, 而糖脂是细胞表面抗原的重要组成成分, 作为胞外生理活性物质的受体参与细胞识别和信号传递。因此, 本试验提示我们今后需要特别关注参与糖脂合成和代谢的差异基因。

Vogeli等<sup>[3]</sup>研究表明 *FUT1* 基因G到A的突变, 改变了蛋白质的构像和功能, 使苏氨酸(中性-极性)代替了丙氨酸(中性-非极性)。该突变造成了红细胞酶系统的改变, 导致了猪对F18 黏附素的抗性和敏感性。而本研究筛选到的差异表达最明显的A基因是血型A转移酶基因, 该基因参与了鞘糖脂生物合成-乳系列的通路(Glycosphingolipid biosynthesis- lacto and neo-lacto series), A基因最终的表达产物为N-乙酰半乳糖转移酶, 该酶可以使H寡糖链(H抗原)上加入特异性糖, 从而产生特异性A抗原。根据A基因生物学功能的解释与报道的红细胞酶系统改变的研究结果一致, 可能与大肠杆菌F18 菌株受体形成有关。

*ST3GAL1* 基因, 也称为 *SIAT4A*, 全称为  $\beta$ -半乳糖苷  $\alpha$ -2,3-唾液酸转移酶( $\beta$ -galactoside  $\alpha$ -2,3-sialyl-transferase), 属于 II类膜蛋白, 催化生成不同连接形式唾液酸的过程, 这一过程产生唾液酸胞苷单磷酸脂(CMP-NeuAc), 与各种寡糖结合从而组成多种糖蛋白、糖脂及多糖<sup>[15,16]</sup>。唾液酸以不同连接形式存在于酸化的糖配体末端形成受体组份, 在细胞与细胞的识别、细胞分化及受体-配体联接系统中扮演重要角色<sup>[17]</sup>。神经节苷脂GM1 正是其含有的一个唾液酸与相应糖链内部半乳糖连接的产物。在图 4 所示的 Glycosphingolipid biosynthesis - ganglio series通路中, *ST3GAL1*(即 *SIAT4A*)基因编码产物的上游, 以及产物所激活的下游均为神经节苷脂类物质, 进一步提示了 *ST3GAL1* 基因与大肠杆菌F18 菌株受体的相关性。

芯片另一方面研究结果显示, 大部分差异基因的功能涉及机体的免疫应答, 这同样符合生物学现象。因为机体的免疫系统是由中枢淋巴器官、外周淋巴器官、免疫细胞和免疫分子所组成, 在体内分布十分广泛, 是个体维持健康的关键, 并随着机体内环境的变化而变化, 并且免疫系统所涉及的基因数量庞大。同时, 由于本实验在屠宰时的全同胞个

体均没有出现腹泻和水肿病症状, 机体相应的免疫系统处于未激活状态, 因此, 基因芯片筛选出的与免疫相关的差异基因并不能完全确定为是与仔猪腹泻和水肿病相关的重要基因。

下一步将针对筛选出的目标差异基因进行进一步的研究, 综合运用荧光定量、蛋白质组学等相关技术来更准确地分析验证目的基因的功能。对芯片结果的分析除了针对以上差异基因进行分析外, 还需要对芯片结果进行整体的把握。同时还需要更多的数据库及分析工具的支持, 如研究差异基因的调控序列等, 并将基因的共调节与其生物学功能联系起来, 筛选的芯片结果才会更全面、更准确、更有意义, 可为下一步猪大肠杆菌 F18 菌株抗性的机理分析和抗病育种工作提供更有力的依据。

#### 参考文献(References):

- [1] Benin AM, Ducher-Suchaux MF. Relationship between virulence and adherence of various enterotoxigenic *Escherichia coli*: strains to isolated intestinal epithelial cells from Chinese Meishan and European large white pigs. *Am J Vet Res*, 1991, 52(1): 45-49. [\[DOI\]](#)
- [2] Meijerink E, Fries R, Vogeli P, Masabanda J, Wigger G, Stricker C, Neuenschwander S, Bertschinger H U, Stranzinger G. Two  $\alpha$  (1,2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (S) and *Escherichia coli* F18 receptor (ECF18R) Loci. *Mamm Genome*, 1997, 8(10): 736-741. [\[DOI\]](#)
- [3] Vogeli P, Meijerink E, Fries R, Stricker C, Bertschinger HU. A molecular test for the detection of *E. coli* F18 receptors: a breakthrough in the struggle against oedema disease and postweaning diarrhoea in Swine. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 1997, 139(11): 479-484. [\[DOI\]](#)
- [4] 刘月环. 氟烷基因与 *FUT1* 基因对猪生产性能效应的研究. 浙江大学硕士学位论文, 2001. [\[DOI\]](#)
- [5] 施启顺, 谢新民, 柳小春, 黄生强, 贺长青. 猪肠毒素大肠杆菌(ETEC)F18 受体基因型检测报告. *遗传*, 2002, 24(6): 656-658. [\[DOI\]](#)
- [6] 施启顺, 黄生强, 柳小春, 贺长青, 蒋隽. 不同猪种 *E. coli* F18 受体基因的多态性. *遗传学报*, 2003, 30(3): 221-224. [\[DOI\]](#)
- [7] 晏学明, 任军, 郭源梅, 丁能水, 陈克飞, 高军, 艾华水, 陈从英, 麻骏武, 黄路生. 猪  $\alpha$ 1-岩藻糖转移酶基因 (*FUT1*) 在 26 个中外猪种中的遗传变异研究. *遗传学报*, 2003, 30(9): 830-834. [\[DOI\]](#)
- [8] Bao WB, Wu SL, Musa HH, Zhu GQ, Chen GH. Genetic variation at the  $\alpha$  -1- fucosyltransferase (*FUT1*) gene in Asian wild boar and Chinese and Western commercial

- pig breeds. *J Anim Breed Genet*, 2008, 125(6): 427–430. [\[DOI\]](#)
- [9] 吴圣龙, 鞠慧萍, 包文斌, 陈国宏, 朱国强, 黄雪根, 华金弟, 李碧春, 原志伟. 猪 $\alpha$ 1-岩藻糖转移酶基因点突变的PCR-SSCP检测. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2006, 27(2): 68–71. [\[DOI\]](#)
- [10] 吴圣龙, 原志伟, 鞠慧萍, 黄雪根, 华金弟, 沈家林, 周冠月, 王建业, 谢恺舟, 陈国宏, 朱国强. 苏太仔猪FUT1 基因M307 位点多态性与F18 大肠杆菌抗病相关性的体外鉴定. 中国预防兽医学报, 2007, 29(10): 783–787. [\[DOI\]](#)
- [11] Bertschinger HU, Pohlenz J. Bacterial colonization and morphology of the intestine in porcine *Escherichia coli* enterotoxemia (edema disease). *Vet Pathol*, 1983, 20(1): 99–110. [\[DOI\]](#)
- [12] Mouricout M, Vddrine B, Grange PH. Approach to the molecular basis and genetics of susceptibility resistance to colibacillosis in porcine species. In: *Proc Inter Conf Anim Biol*. 1997, 47–50.
- [13] Imberechts H, De Greve H, Schlicker C, Bouchet H, Pohl P, Charlier G, Bertschinger H, Wild P, Vandekerckhove J, van Damme J. Characterization of F107 fimbriae of *Escherichia coli* 107/86, which causes oedema disease in pigs and nucleotide sequence of F107 major fimbrial subunit gene, fedA. *Infect Immun*, 1992, 60(5): 1963–1971. [\[DOI\]](#)
- [14] Linggood MA, Thompson JM. Verotoxin production among porcine strains of *Escherichia coli* and its association with oedema disease. *J Med Microbiol*, 1987, 24(4): 359–362. [\[DOI\]](#)
- [15] Paulson JC, Colley KJ. Glycosyltransferases. Structure, localization, and control of cell type-specific glycosylation. *J Biol Chem*, 1989, 264(30): 17615–17618. [\[DOI\]](#)
- [16] Harduin-Lepers A, Recchi MA, Delannoy P. 1994, the year of sialyltransferases. *Glycobiology*, 1995, 5(8): 741–758. [\[DOI\]](#)
- [17] Kelm S, Schauer R. Sialic acids in molecular and cellular interactions. *Int Rev Cytol*, 1997, 175: 137–240. [\[DOI\]](#)

## • 综合信息 •

### 2009 年生物学类期刊主要指标

2010 年 11 月 26 日, 中国科学技术信息研究所在北京发布了“2010 年版中国科技期刊引证报告(核心版)”。现将部分生物学类核心期刊的主要指标予以转载(表 1), 以飨读者。

表 1 中国生物学类核心期刊 2009 年度主要指标一览表

序号	刊 名	影响因子	总被引频次	综合评价总分	学科影响指标
1	生态学报	1.812	11764	86.3	0.69
2	植物生态学报	1.771	4384	72.8	0.52
3	应用生态学报	1.733	9430	80.7	0.59
4	生物多样性	1.553	1634	61.8	0.61
5	生态学杂志	1.396	4048	56.8	0.57
6	西北植物学报	0.986	4177	48.8	0.64
7	兽类学报	0.894	867	30.5	0.38
8	Cell Research	0.873	694	42.0	0.48
9	植物学报	0.841	1592	48.1	0.56
10	植物研究	0.809	1153	35.9	0.43
11	昆虫学报	0.808	1640	40.7	0.43
12	应用与环境生物学报	0.795	1666	41.4	0.54
13	<b>遗传</b>	<b>0.760</b>	<b>1667</b>	<b>44.8</b>	<b>0.75</b>
14	水生生物学报	0.759	1773	39.3	0.52
15	病毒学报	0.753	645	37.3	0.28
16	菌物学报	0.721	944	31.1	0.46
17	Molecular Plant	0.687	1778	48.7	0.62
18	微生物学报	0.676	1609	39.6	0.64
19	昆虫知识	0.671	1459	34.4	0.30
20	Acta Biochimica et Biophysica Sinica	0.668	626	38.4	0.59
21	Current Zoology	0.658	1229	40.4	0.51
22	动物学杂志	0.650	1005	35.2	0.43
23	武汉植物研究	0.647	1142	37.9	0.49
<b>61 种核心期刊平均值</b>		<b>0.618</b>	<b>1421</b>	—	—