

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.01225

仔猪 *BPI* 基因表达水平与大肠杆菌 F18 菌株感染的关系

叶兰¹, 訾臣¹, 刘璐¹, 朱璟¹, 谢恺舟¹, 朱国强^{2,3,4}, 黄小国^{3,4}, 包文斌^{1,3,4},
吴圣龙^{1,3,4}, 王金玉¹

1. 扬州大学动物科学与技术学院, 江苏省动物遗传繁育与分子设计重点实验室, 扬州 225009;
2. 扬州大学兽医学院, 扬州 225009;
3. 江苏省现代种猪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: 文章利用已建立的苏太猪 F18 大肠杆菌病抗性和敏感性资源家系群体作为实验材料, 分别选择 8 头 35 日龄左右生长性状基本一致的大肠杆菌 F18 菌株抗性和敏感性断奶仔猪, 运用 Real-time PCR 方法检测 *BPI* 基因 mRNA 在断奶仔猪各个组织的分布情况, 并比较其在大肠杆菌 F18 菌株抗性和敏感型断奶仔猪个体间的差异表达水平, 为探讨该基因在免疫和抗大肠杆菌 F18 菌株感染中的作用提供依据。结果表明, 在对所有个体检测的 11 个组织中, *BPI* 基因在心、肝、脾、肺、肾、胃、肌肉、胸腺、淋巴结中几乎不表达, 或表达量很低, 但在十二指肠和空肠中表达量很高。在十二指肠和空肠中, *BPI* 基因在抗性组的表达量均显著高于敏感组的表达量($P<0.05$)。由此表明, *BPI* 基因对抗断奶仔猪肠道中大肠杆菌 F18 菌株的感染可能具有直接作用, 并且个体对大肠杆菌 F18 菌株的抗性可能与 *BPI* 基因在肠道中表达量上调有关。

关键词: 大肠杆菌 F18 菌株; 断奶仔猪; *BPI* 基因; Real-time PCR

Study on the relationship between the expression of *BPI* gene and *Escherichia coli* F18 infection in piglets

YE Lan¹, ZI Chen¹, LIU Lu¹, ZHU Jing¹, XIE Kai-Zhou¹, ZHU Guo-Qian^{2,3,4}, HUANG Xiao-Guo^{3,4}, BAO Wen-Bin^{1,3,4}, WU Sheng-Long^{1,3,4}, WANG Jin-Yu¹

1. Animal Science and Technology College, Yangzhou University, Key Laboratory for Animal Genetics, Breeding, Reproduction and Molecular Design of Jiangsu Province, 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 established resource populations of Suta pig, the expression of *BPI* gene was assayed by Real-time PCR to detect the tissue expression and analyze the differential expression between *Escherichia coli* F18-resistant

收稿日期: 2011-01-07; 修回日期: 2011-05-11

基金项目: 转基因生物新品种培育科技重大专项(编号: 2009ZX08006-004B), 江苏省科技支撑计划(农业)(编号: BE2008364, BE2009330-2, BE2010371, BE2010450)和常州市农业科技攻关项目(编号: CE20092004, CE20102006)资助

作者简介: 叶兰, 博士研究生, 专业方向: 猪抗病育种。E-mail: lanye5001_5891@yahoo.com.cn

通讯作者: 吴圣龙, 博士, 研究员, 研究方向: 猪遗传育种。E-mail: slwu@yzu.edu.cn;

王金玉, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: jyywang@yzu.edu.cn

网络出版时间: 2011-8-17 14:16:38

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110817.1416.002.html>

and sensitive piglets. This study aimed at providing a theoretical foundation for further research on the role *BPI* gene in host immunity and resistance to *E. coli* F18. The results showed that the expression of *BPI* gene was extremely low or undetectable in tissues including heart, liver, spleen, lung, kidney, stomach, muscle, thymus, and lymph nodes, which was in a stark contrast to the significantly high levels in duodenum and jejunum. In the tissues of both jejunum and duodenum, the mRNA expression of *BPI* gene in resistant individuals was significant higher than that in the sensitive individuals ($P < 0.05$). The results suggested that *BPI* gene was likely to be related to the intestinal infection caused by *E. coli* F18. It is possible that the increased expression of *BPI* gene in intestinal is in connection with the resistance to *E. coli* F18.

Keywords: *Escherichia coli* F18; post-weaning piglets; *BPI* gene; Real-time PCR

杀菌通透性增强蛋白(Bactericidal/permeability-increasing protein, BPI)作为哺乳动物自身的内源性蛋白质,主要表达于多形核白细胞(Polymorphonuclear leukocytes, PMNs)的嗜苯胺蓝颗粒中。研究表明,该蛋白在机体天然防御系统中发挥着重要作用,它不仅能够促进补体活化、抑制炎性介质释放、抗真菌和原虫,尤为突出的是还能杀灭革兰氏阴性菌,中和内毒素或脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS) [1~7]。前期,周红等在完成了对在猪中性粒细胞中猪源BPI蛋白的成功提取和纯化后,结合体内外生物活性试验证实猪源BPI蛋白同样具有中和内毒素,杀灭革兰氏阴性菌的生理学功能;另外,周红等的后续研究表明,抗人BPI蛋白的抗体可以增强猪源BPI蛋白的体外生物活性 [8~10]。国内外对于猪BPI基因的多态性及其与个体对疾病的抗性或易感性的关联分析也有相关报道。然而关于猪BPI基因的信息只在美国专利网中搜索到一段长 1 452 bp 的 10 号序列,没有清楚的注释,仅被命名为专利BPI序列。袁树楷对荣昌猪BPI基因全长cDNA进行了克隆 [11]; 曹晓华检测到荣昌猪BPI基因外显子 3 和 4 分别存在 2 个和 6 个 SNP 位点 [12]; Christopher 等发现BPI基因在外显子 4 和 10 中分别存在 *Ava* II 和 *Hpa* II 两个酶切位点,通过攻毒试验表明上述位点的多态性与猪对沙门氏菌的易感性有关,进而把BPI基因确立为抗病育种候选基因 [13]。

断奶仔猪腹泻和水肿病是两种导致断奶仔猪死亡的重要传染性疾病,对养猪业造成了巨大的经济损失。大肠杆菌F18 菌株是引起这两种疾病的主要病原菌,其致病机理主要是依靠细菌表面菌毛粘附在仔猪小肠上皮细胞表面,与仔猪小肠粘膜上皮细胞刷状缘的受体相结合,进而定居、繁殖,产生肠毒素,

引起仔猪发病 [14]。现有研究表明 α -(1,2)岩藻糖转移酶基因(*FUT1* 基因)是与大肠杆菌F18 菌株粘附受体连锁的候选基因。*FUT1* 基因M307 处存在G/A突变位点,并且G对A为显性,即AA基因型猪为大肠杆菌F18 菌株抵抗型,而GG型和AG型则为敏感型 [15,16]。

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。为了解中外猪种间抗大肠杆菌F18 菌株感染遗传机制的差异,本课题组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;与此同时,我们已建立V型分泌系统展呈功能性黏附素和受体结合试验技术平台,为进一步分析和验证群体内仔猪个体对大肠杆菌F18 菌株的抗性或易感性提供依据 [17]。

鉴于 BPI 蛋白在动物机体天然防御中发挥着极为重要的作用,本研究利用课题组前期在苏太猪群体中建立的大肠杆菌病抗性和敏感性资源家系群体作为试验材料,运用 Real-time PCR 检测 *BPI* 基因在断奶仔猪不同组织中的表达,进而分析 *BPI* 基因在大肠杆菌 F18 菌株抗性和敏感性资源群体中的表达情况,探讨 *BPI* 基因的表达与大肠杆菌 F18 菌株感染间的关系,为进一步研究 *BPI* 基因的功能提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验猪取自课题组前期建立的大肠杆菌 F18 菌株抗性和敏感性苏太猪资源群体。基于上述群体,待仔猪生长至断奶前后,即最易感染大肠杆菌 F18 菌株而表现出腹泻症状的 35 日龄阶段,筛选出在相

同环境下饲养的初生重、断奶重、体形和毛色等性状基本一致的抗性型和敏感型个体各 8 头进行屠宰, 取组织样, 包括心脏、肝脏、脾脏、肺、肾脏、胃、肌肉、胸腺、淋巴结、十二指肠和空肠共 11 个组织, 现场液氮保存, 然后转移至 -70°C 冰箱保存备用。同时, 利用课题组建立的 V 型分泌系统展示功能性黏附素和受体结合实验技术, 对 AA 基因型和 AG、GG 基因型个体的大肠杆菌 F18 菌株抗性/易感性进行进一步的分析和验证。

1.2 引物设计与合成

根据已发表的猪 *BPI* 基因和 *GAPDH* 基因序列设计 Real-time PCR 引物。*BPI* 基因引物设计参照 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中 NM_001159307 序列, 遵循跨外显子设计等原则利用 primer express 2.0 软件进行设计, 由上海英骏生物技术有限公司合成。*BPI* 基因扩增片段长度为 136 bp, 正向引物: 5'-ATATCGAATCTGCGCTCCGA-3'; 反向引物: 5'-TTGATGCCAACCAATTCTGTCC-3'。以 *GAPDH* 作为内参基因, 正向引物: 5'-ACATCATCCCTGCTTCTA CTGG-3'; 反向引物: 5'-CTCGGACGCCTGCTTC AC-3', 扩增片段长度为 187 bp。

1.3 总 RNA 提取及 RT-PCR 反应

利用 Trizol 法提取仔猪各组织总 RNA, 提取步骤严格按试剂盒说明书操作, 以 2.2% 甲醛变性凝胶电泳和紫外分光光度仪检测总 RNA 的纯度和浓度, -70°C 保存备用。10 μL 的 cDNA 合成反应体系中含 5 \times PrimerScript Buffer 反应液 2 μL , PrimerScript RT Enzyme Mix I 0.5 μL , Oligo dT 0.5 μL (50 $\mu\text{mol/L}$), Random 6 mers 0.5 μL (100 $\mu\text{mol/L}$), 总 RNA 500 ng, RNase free H_2O 补足至 10 μL 。反应条件为 37°C 15 min, 85°C 5 s, 4°C 保存。

PCR 扩增目的 DNA 片段反应体系为 25 μL : 模板 1.0 μL , 10 \times PCR buffer 2.5 μL , Mg^{2+} (25 mmol/L) 1.5 μL , 引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.5 μL , dNTP (10 mmol/L) 0.5 μL , *Taq* 酶 (5 U/ μL) 0.2 μL , 以及 dd H_2O 18.3 μL 。反应条件: 样品经 95°C 变性 15 min 后, 按照下列程序进行扩增: 95°C 20 s, 62°C 20 s, 72°C 20 s, 33 个循环后, 72°C 延伸 7 min, 4°C 保存。

1.4 标准曲线的建立

取一定量的 cDNA 模板以 10 倍浓度梯度进行稀

释后, 依次进行实时 PCR 扩增。根据在荧光定量 PCR 仪中输入的不同浓度梯度数值, 软件按照反应的荧光实时监控数据自动作出 *BPI* 和 *GAPDH* 基因的标准曲线。

1.5 荧光定量 PCR 反应体系及反应条件

Real-time PCR 20 μL 反应体系包括 cDNA 1 μL , 上下游引物各 (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.4 μL , ROX Reference Dye II (50 \times) 0.4 μL , SYBR Green Real-time PCR Master Mix (2 \times) 10 μL , dd H_2O 7.8 μL 。PCR 反应条件为 95°C , 15 s; 95°C 15 s; 62°C 34 s, 40 个循环, 扩增结束后分析溶解曲线。运用溶解曲线上是否具有 (85 ± 0.8) $^{\circ}\text{C}$ T_m 峰来判断 PCR 扩增的单一性, 每份标本进行 3 次实时 PCR 检测, 取平均值。

1.6 数据处理与分析

相对定量的结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行处理, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算公式: $\Delta\Delta C_t = (\text{待测组目的基因平均 } C_t \text{ 值} - \text{待测组看家基因平均 } C_t \text{ 值}) - (\text{对照组目的基因平均 } C_t \text{ 值} - \text{对照组看家基因平均 } C_t \text{ 值})$, 即每一个组织目标基因表达经内参均一化处理后相对于某个组织的倍数。其中, C_t (初始循环数) 为扩增曲线与 Threshold line 交点的横坐标值, 即 PCR 扩增过程中荧光信号强度达到阈值所需要的循环数。利用 SAS9.13 软件进行分析, 数据以 $\bar{X}\pm\text{SD}$ 表示, 用 *t*-test 检验表达量在抗性型和敏感型个体间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 所取样本大肠杆菌 F18 菌株抗性与敏感性状态的检测结果

小肠上皮细胞黏附试验的结果表明, M307^{AA} 基因型的抗性型断奶仔猪小肠上皮细胞几乎丧失了对大肠杆菌的黏附能力 (图 1:A), 而 M307^{GG} 基因型或 M307^{AG} 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:B, C), 照片均使用油镜镜头, 以 1 000 倍放大比例拍摄。

2.2 荧光定量实验结果

提取的 11 个组织总 RNA 经 2.2% 甲醛变性凝胶电泳检测, 可见 28S、18S 和 5S 3 条带, 无 DNA 污染条带及明显降解条带; 另外, 样本的 A260/A280 为 1.8~1.9, 均说明 RNA 提取的质量较高, 可用于

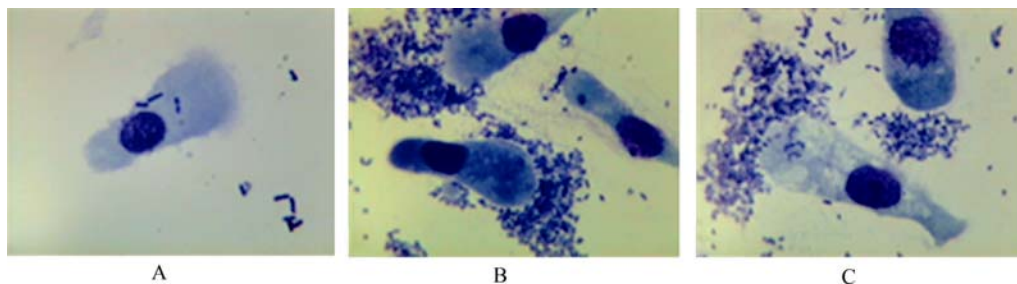


图 1 不同基因型断奶仔猪小肠上皮细胞对表达 F18ab 菌毛的标准菌株 107/86 黏附能力

A: M307^{AA}基因型断奶仔猪对菌株的黏附能力丧失; B: M307^{GG}基因型断奶仔猪能够黏附上述菌株; C: M307^{AG}基因型断奶仔猪能够黏附上述菌株。

后续试验。荧光定量结果显示实验重复性较好, *BPI* 基因 Real-time PCR 溶解曲线表明产物只有 1 个特异峰, 无引物二聚体及非特异性产物形成。标准曲线结果显示, *BPI* 基因和内参基因 *GAPDH* 的扩增效率均在理想的 90%~110% 范围内, 并且目的基因与内参基因的扩增效率一致, 说明可以用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行相对定量的计算。

2.3 *BPI* 基因在不同组织中的相对表达

应用 Real-time PCR 检测了 *BPI* 基因在大肠杆菌 F18 菌株抗性型和敏感型所有个体心、肝、脾等 11 个组织中的表达变化。用内参基因 *GAPDH* 对表达水平进行均一化, 结果如图 2 所示。由图 2 可见 *BPI* 基因在所检测的 11 个组织中都表达, 在心、肝、脾、肺、肾、胃、肌肉、胸腺、淋巴结中几乎不表达, 或表达量很低, 但在十二指肠和空肠中表达量很高, 与其他 9 个组织的表达量差异极显著。

针对抗性和敏感性两个组, 将 *BPI* 基因在表达量相对较高的十二指肠和空肠两个组织中的表达情

况进行比较, 结果见表 1。由表 1 可知, 在十二指肠和空肠中, *BPI* 基因在抗性型个体的平均表达量均显著高于敏感型个体 ($P < 0.05$)。

3 讨论

中性粒细胞因其胞内含有多种具有抗微生物活性的蛋白或肽类, 成为机体先天免疫系统中不可或缺的一部分, 同时也是机体对抗外源微生物的重要防线。该细胞内表达的杀菌/通透性增加蛋白 (Bactericidal/permeability-increasing protein, BPI) 因其特有的生物学功能, 近年来得到了一系列系统的理论和应用研究。涉及该蛋白杀菌功能的机理研究表明, BPI 蛋白或其功能性氨基酸片段对大肠杆菌、志贺痢疾杆菌、沙门氏菌、变形杆菌、奈瑟球菌等多种革兰氏阴性菌所具有的抑制或杀灭作用与其和细菌相互作用的时间有关。在细菌侵染机体的早期, BPI 蛋白特异性结合细菌外膜, 通过激活相应的酶解系统降解细菌膜磷脂和肽聚糖, 改变细菌外膜的通透性, 从而抑制细菌的生长, 但此时的细菌依然

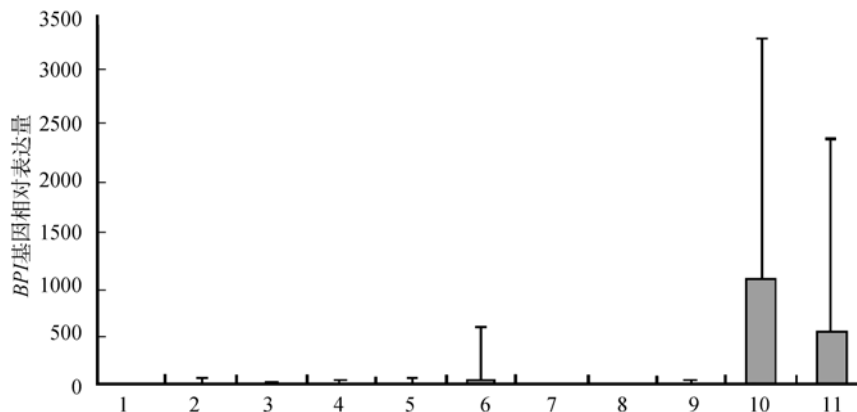


图 2 *BPI* 基因在不同组织中的表达情况

1~11 分别表示心、肝、脾、肺、肾、胃、肌肉、胸腺、淋巴结、十二指肠和空肠。

表 1 *BPI* 基因在抗性和敏感性组十二指肠、空肠中的相对表达量

组织	抗性组表达量	敏感组表达量
十二指肠	1982.396±299.159 ^a	909.804±202.661 ^b
空肠	1370.465±261.508 ^a	695.106±234.439 ^b

注: 同行带有不同肩标的平均数间差异显著($P<0.05$)。

可以通过自我修复而继续生长。但是, 随着BPI蛋白浓度的增加以及抗菌作用时间的延长, 细菌胞膜屏障会受到破坏, 并因出现结构和功能性等不可逆性的改变而最终裂解、死亡^[18,19]。Takahashi等^[20]和Levy等^[21]发现人和小鼠的皮肤、黏膜上皮细胞均能表达BPI蛋白, 由此证明针对皮肤和黏膜上皮的抗感染过程, BPI蛋白可能起着关键作用。Schultz等^[22]报道了人皮肤纤维原细胞黏膜细胞可以提高局部BPI蛋白的水平, 从而保护局部组织不受系统的感染及炎症反应。

大肠杆菌 F18 菌株是肠道中最主要的革兰氏阴性菌, 也是导致断奶仔猪腹泻与水肿病的主要病原菌。当断奶仔猪肠道受到大肠杆菌 F18 菌株感染时, 细菌大量生长繁殖, 同时伴有陆续的死亡, 进而释放出内毒素; 另一方面, 大肠杆菌 F18 菌株可以依靠其菌毛粘附在仔猪小肠上皮细胞表面, 与仔猪小肠黏膜上皮细胞刷状缘的受体相结合, 定居在肠道内, 从而大量繁殖, 产生外毒素, 损伤并破坏组织, 引起仔猪发病。本实验对 *BPI* 基因在所有个体心、肝、肺、肾等 11 个组织的定量表达分析后发现, *BPI* 基因在心、肝、脾、肺、肾、胃、肌肉、胸腺、淋巴结中几乎不表达, 或表达量很低, 但在十二指肠和空肠中表达量很高, 且与其他 9 个组织的表达量差异极显著。值得关注的是, *BPI* 基因在脾、肺、肾、胸腺、淋巴结等免疫器官中几乎不表达, 可见, *BPI* 基因对大肠杆菌 F18 菌株的抗性作用可能不是通过调节和参与机体的免疫识别来实现的。根据 BPI 蛋白的生物学活性作用, 并结合本实验结果可见, BPI 蛋白极有可能对肠道中的大肠杆菌 F18 菌株等革兰氏阴性菌具有直接的杀伤作用。我们可以推测, 当断奶仔猪受大肠杆菌 F18 菌株侵袭后, 便激活了 BPI 蛋白杀菌及免疫的一系列级联效应, BPI 蛋白与大肠杆菌外膜特异性结合, 同时发挥其杀菌作用以及中和内毒素的功能, 使得大肠杆菌 F18 菌株在吸

附于小肠粘膜并释放肠毒素之前就裂解并死亡, 从而降低了断奶仔猪个体感染大肠杆菌 F18 菌株的机率。针对两个表达量相对较高的组织, 即十二指肠和空肠, 在抗性和敏感性两组之间进行比较后发现, *BPI* 基因均是在抗性组的表达量显著高于敏感性组的表达量, 该结果进一步显示, 个体对大肠杆菌 F18 菌株的抗性可能与 *BPI* 基因在肠道中表达量的上调有关。

当然, 针对导致断奶仔猪感染腹泻和水肿病的影响因素除了关键的致病菌大肠杆菌 F18 菌株外, 还有饲养条件等环境因素。个体对疾病的抵抗力也是由一般抗病力和特殊抗病力之间的协同作用来实现的。本试验结果提示, *BPI* 基因对断奶仔猪抗大肠杆菌病可能发挥着一定的作用。下一阶段我们将构建 *BPI* 基因的原核表达载体, 在体外研究其对小肠上皮细胞大肠杆菌 F18 菌株黏附情况的影响, 从而为 BPI 蛋白与大肠杆菌 F18 菌株感染间的关系提供更为直接的证据。

参考文献(References):

- [1] Weiss J, Muello K, Victor M, Elsbach P. The role of lipopolysaccharides in the action of the bactericidal/permeability-increasing neutrophil protein on the bacterial envelope. *J Immunol*, 1984, 132(6): 3109-3115. DOI
- [2] Capodici C, Chen S, Sidoreczyk Z, Elsbach P, Weiss J. Effect of lipopolysaccharide (LPS) chain length on interactions of bactericidal/permeability-increasing protein and its bioactive 23-kilodalton NH₂-terminal fragment with isolated LPS and intact *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 1994, 62(1): 259-265. DOI
- [3] Wilde CG, Seilhamer JJ, McGrogan M, Ashton N, Snable JL, Lane JC, Leong SR, Thornton MB, Miller KL, Scott RW. Bactericidal/permeability-increasing protein and lipopolysaccharide (LPS)-binding protein. LPS binding properties and effects on LPS-mediated cell activation. *J Biol Chem*, 1994, 269(26): 17411-17416. DOI
- [4] Iovine NM, Elabach P, Weiss J. An opsonic function of the neutrophil bactericidal/permeability increasing protein depends on both its N- and C-terminal domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(20): 10973-10978. DOI
- [5] van der Schaft DW, Toebes EA, Haseman JR, Mayo KH, Griffioen AW. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) inhibits angiogenesis via induction of apoptosis

- in vascular endothelial cells. *Blood*, 2000, 96(1): 176–181. [DOI](#)
- [6] Newman SL, Gootee L, Gabay JE, Selsted ME. Identification of constituents of human neutrophil azurophil granules that mediate fungistasis against *Histoplasma capsulatum*. *Infect Immun*, 2000, 68(10): 5668–5672. [DOI](#)
- [7] Khan AA, Lambert LH Jr, Remington JS, Araujo FG. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) in combination with sulfadiazine is active against *Toxoplasma gondii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1999, 43(4): 758–762. [DOI](#)
- [8] 周红, 郑江, 肖光夏. 猪源杀菌性/通透增加蛋白对革兰氏阴性菌的作用. *中华传染病杂志*, 1992, 17(1): 47–48. [DOI](#)
- [9] 周红, 袁建成, 周立新, 郑江, 肖光夏. 杀菌性/通透性增加蛋白中和内毒素作用的体内外研究. *中华医学杂志*, 1999, 79(4): 304–305. [DOI](#)
- [10] 周红, 郑江, 秦孝建, 肖光夏. 抗人BPI抗体对猪源BPI体外生物活性的增强作用. *第三军医大学学报*, 2002, 24(1): 76–78. [DOI](#)
- [11] 袁树楷. 荣昌猪BPI基因全长cDNA克隆及SNP分析[学位论文]. 重庆: 西南大学, 2007. [DOI](#)
- [12] 曹晓华. 四个猪种间BPI蛋白基因外显子 3 和 4 的SNP分析[学位论文]. 重庆: 西南大学, 2008. [DOI](#)
- [13] Tuggle, CK, Thomas JS, Shi XW, Martha AM. Genetic markers for improved disease resistance in animals (BPI). United States Department of Agriculture patents. 2006 no. US 7,070,929 B2, 36 p. [DOI](#)
- [14] Da Silva AS, Valadares GF, Penatti MPA, Brito BG, Da Silva LD. *Escherichia coli* strains from edema disease: O serogroups, and genes for Shiga toxin, enterotoxins, and F18 fimbriae. *Vet Microbiol*, 2001, 80(3): 227–233. [DOI](#)
- [15] Meijerink E, Fries R, Vögeli P, Masabanda J, Wigger G, Stricker C, Neuenschwander S, Bertschinger HU, Stranzinger G. Two α (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](#)
- [16] Vögeli P, Meijerink E, Fries R, Neuenschwander S, Vorländer N, Stranzinger G, Bertschinger HU. A molecular test for the detection of *E. coli* F18 receptors: a Breakthrough in the struggle against edema disease and post-weaning diarrhea in swine. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 1997, 139(11): 479–484. [DOI](#)
- [17] 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](#)
- [18] Weiss J, Beckerdite-Quagliata S, Elsbach P. Resistance of gram-negative bacteria to purified bactericidal leukocyte proteins: relation to binding and bacterial lipopolysaccharide structure. *J Clin Invest*, 1980, 65(3): 619–628. [DOI](#)
- [19] Mannion BA, Weiss J, Elsbach P. Separation of sublethal and lethal effects of polymorphonuclear leukocytes on *Escherichia coli*. *J Clin Invest*, 1990, 86(2): 631–641. [DOI](#)
- [20] Takahashi M, Horiuchi Y, Tezuka T. Presence of bactericidal/permeability-increasing protein in human and rat skin. *Exp Dermatol*, 2004, 13(1): 55–60. [DOI](#)
- [21] Levy O, Canny G, Serhan CN, Colgan SP. Expression of BPI (bactericidal/permeability-increasing protein) in human mucosal epithelia. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(4): 795–800. [DOI](#)
- [22] Schultz H, Weiss JP. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in infection and inflammatory disease. *Clin Chim Acta*, 2007, 384(1–2): 12–23. [DOI](#)