

DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201708008](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201708008)

猪雄性增强抗原 1 基因 *MEAI* 编码区克隆、 表达及生物信息学分析*

霍海龙^{1#}, 张霞^{2#}, 范俐³, 赵筱⁴, 唐宏涛², 高林青⁵,
王世雄⁴, 杨云⁴, 浦仕飞⁴, 刘丽仙^{4**}

(1. 云南农业职业技术学院 教务处, 云南 昆明 650031; 2. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201;
3. 云南省农业科学院 粮食作物研究所, 云南 昆明 650205; 4. 云南农业职业技术学院 畜牧兽医学院, 云南 昆明
650031; 5. 长治职业技术学院, 山西 长治 046000)

摘要:【目的】克隆猪 *MEAI* 基因编码区序列, 获得基因表达谱并了解其蛋白质的基本功能。【方法】从 GenBank 下载猪及近缘物种 *MEAI* 序列作为参考序列, 设计特异引物从版纳微型猪近交系 (BMI) 睾丸组织中扩增 *MEAI* 基因完全编码序列及部分侧翼序列, 对 *MEAI* 翻译的蛋白质序列进行多种功能生物信息学分析并构建多物种系统进化树, 最后用实时荧光定量 PCR 技术检测 BMI 15 个重要组织的 *MEAI* mRNA 转录表达水平。【结果】扩增得到 BMI *MEAI* 编码区序列长 525 bp, 编码 174 个氨基酸。功能生物信息学分析表明: *MEAI* 含有 1 个完整的保守结构域, 无跨膜螺旋结构, 无 N 端信号肽序列, 二级结构以无规卷曲为主, N 末端疏水, C 末端均亲水, 有 3 类功能活性位点。系统进化分析表明: *MEAI* 基因在进化中高度保守, 且与人、长臂猿的亲缘关系最近, 符合物种的系统分类地位。多组织相对荧光定量表达分析表明: *MEAI* 基因在睾丸中高表达, 在心、肝等其他 14 个组织中低表达。【结论】为探索 BMI *MEAI* 基因在睾丸形成和精子发生过程中的作用及功能奠定基础。

关键词: 雄性增强抗原; 版纳微型猪近交系; 组织表达; 生物信息学

中图分类号: S 828.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2018) 06-1075-06

Coding Sequence Cloning, Expression and Bioinformatics Analysis of Swine Male Enhancer 1 Gene

HUO Hailong¹, ZHANG Xia², FAN Li³, ZHAO Xiao⁴, TANG Hongtao², GAO Linqing⁵,
WANG Shixiong⁴, YANG Yun⁴, PU Shifei⁴, LIU Lixian⁴

(1. Teaching Affairs Department, Yunnan Vocational and Technical college of Agriculture, Kunming 650031, China;
2. Institute of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
3. Institute of Food Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, China;
4. College of Husbandry and Veterinary, Yunnan Vocational and Technical College of Agriculture, Kunming 650031,
China; 5. Changzhi Vocational and Technical College, Changzhi 046000, China)

Abstract: [Purpose] The aim of the present study is to obtain the CDS sequence of *MEAI* gene,

收稿日期: 2017-08-02 修回日期: 2017-10-29 网络出版时间:

*基金项目: 云南农业职业技术学院重点资助项目 (Ynavc201705)。

作者简介: #对本文贡献等同, 为并列第一作者。霍海龙 (1982—), 男, 山西五寨人, 博士, 副教授, 主要从事动物分子遗传学研究。E-mail: 75841145@qq.com; 张霞 (1990—), 女, 山西宁武人, 在读博士研究生, 主要从事动物分子遗传学研究。E-mail: 2574705914@qq.com

**通信作者 Corresponding author: 刘丽仙 (1976—), 女, 云南巍山人, 教授, 主要从事动物分子遗传学研究。
E-mail: 981756352@qq.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201708008](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201708008)

and to get the expression profile of the *MEAI* and to know the basic function of *MEAI* swine protein. [Methods] The specific primers were designed based on GenBank *MEAI* mRNA sequences of pig and related species, and the CDS and flanking sequence of *MEAI* gene were amplified from the testis tissue of Banna mini-pig inbred line (BMI). The amino acid sequence of *MEAI* protein was used to carry out functional bioinformatics analysis and construct the phylogenetic tree. Real-time quantitative PCR was applied to analyse the *MEAI* gene expression profiles of 15 important tissues. [Results] We obtained a 525 bp CDS of BMI *MEAI* gene, which encodes a peptide of 174 amino acids. Bioinformatics analysis indicated that the *MEAI* protein contained a complete *MEAI* domain without transmembrane region and signal peptide sequences. Its secondary structure is predominantly composed of random coil and its N-terminal is hydrophobic and C-terminal is hydrophilic. The *MEAI* protein has three different modification sites. BMI *MEAI* had the closest relationship with that of human and gibbon by phylogenetic analysis. This demonstrated that protein sequences are coincident with classical taxonomy. Real-time quantitative PCR in multi-tissues indicated that *MEAI* gene was expressed highly in the testis tissue, and in other 14 tissues were weak. [Conclusion] Our study will lay a foundation for further study of the *MEAI* gene functions in pig testicular development and spermatogenesis.

Keywords: *MEAI* (the male-enhanced antigen-1); Banna mini-pig inbred line (BMI); tissue expression; bioinformatics

雄性增强的抗原-1 基因 (the male-enhanced antigen-1 gene, *MEAI*) 最初是从用抗雄性小鼠血清细胞构建的原核表达 cDNA 文库中分离获得^[1]。分析其结构, 发现 *MEAI* 基因序列侧面有 2 个基因: *Ppp2r5d* 和 *Peas*, 使得 *Peas-MEAI-Ppp2r5d* 成为 1 个基因复合体^[2]。有研究报道 *MEAI* 基因位于人 6 号染色体, 位于小鼠 17 号染色体, 位于牛 23 号染色体, 在哺乳动物系统发育过程中是比较保守的^[3]。通过原位杂交, 揭示了 *MEAI* 在生精管上皮细胞的粗线期高表达^[4]。免疫组化分析显示该基因在精子生成后期发生转录^[4]。在小鼠的研究中表明: *MEAI* 在睾丸中明显高表达, 在心脏、肝脏、大脑中微量表达^[5]。Northern-blot 结果显示: 该基因编码大约 1.5 kb 的单个转录本, 当葡萄糖、棉子糖或果糖存在的情况下, 有表达量^[6]。*MEAI* 被报道在小鼠的精母细胞中表达^[7]。通过分析该基因的 SNP 位点及其与生精过程中各个激素指标的相关性, 其中两个位点可作为选育性欲较强的雄性动物的分子标记^[8]。

版纳微型猪近交系 (Banna mini-pig inbred line, BMI) 作为一个大型哺乳动物近交系, 其遗传背景较为清楚, 生理、病理特征与人类相似, 在临床医学、人类疾病模型、异种器官移植等方面有一定的价值^[9-13]。但是在正常繁育 BMI 的 37

年来, 有多个亚系断代, 前期研究发现是部分公猪不育造成的, 这些不育公猪已成为阻碍其群体进一步扩大的障碍, 因此对版纳微型猪近交系雄性不育的研究很有必要。由于 *MEAI* 基因在哺乳动物精子生成后期发挥着重要作用, 本研究通过克隆版纳微型猪近交系 *MEAI* 基因, 确定其序列特征; 进而对蛋白质进行功能生物信息学分析预测其功能, 通过 mRNA 的多组织表达谱确定其发挥功能的重要组织, 对该基因在 BMI 公猪精子生成方面的功能研究奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

屠宰云南农业大学版纳微型猪近交系实验猪场的成年公猪, 取睾丸和附睾 (性腺), 前列腺、精囊腺和尿道球腺 (副性腺), 5 种雄性生殖重要相关组织; 取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、胃脏、脑、肌肉、十二指肠 (小肠)、结肠 (大肠) 等常规组织; 共 15 种组织样品。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取和第一链 cDNA 合成

参照说明书利用柱式 RNA 提取试剂盒 (TaKaRa: 9767) 分别提取各组织总 RNA, 检测所提 RNA 的浓度、纯度及完整性, 合格样品按

反转录试剂盒 (TaKaRa: 6210A) 操作说明书反转录为第一链 cDNA 保存备用。

1.2.2 引物设计及合成

根据 GenBank 下载的猪 (NM_001110429)、牛 (NM_174648)、小鼠 (NM_001277309)、人 (NM_014623) 等物种的 *MEAI* mRNA 序列, 结合猪表达序列标签 EST 序列 (CF176017、CJ008523、CK452977、FS670642、HX242707), 利用 Oligo 7 软件设计 F₁/R₁ 特异引物 (F₁: AGGCTAAAG-CTGGGCCTAAT, R₁: AACCAGGATGCGTTCAG-TCC) 来扩增 *MEAI* 基因 665 bp, 其中包括全长 CDS 及部分 5' 和 3' 侧翼序列; 设计 F₂/R₂ 特异引物 (F₂: CCAGGATCGAATCCAGGCCTTG, R₂: CGTGTCTGGGTCCATGGGAAT) 扩增 125 bp, 并以 *GAPDH* 基因为内参 (F: CCTTCATTGACC-TCCACTACATGGT, R: CCACAACATACGTAGCACCAGCATC) 扩增 183 bp, 利用荧光定量法分析各组织的表达水平。

1.2.3 RT-PCR 分离 *MEAI* 基因和生物信息学分析

PCR 反应总体系 25 μ L, 采用 TaKaRa Ex TaqE 体系, 琼脂糖凝胶电泳确定扩增的 *MEAI* 基因片段与引物设计时预期的片段大小吻合, 胶回收后测序。利用 Lasergene 软件中的 SeqMan 程序进行组装、拼接、并人工校对, 确定 BMI *MEAI* 基因编码序列并提交 GenBank 数据库, 同时推导出其编码的氨基酸序列并进行生物信息学分析。

1.2.4 *MEAI* 基因多组织表达分析

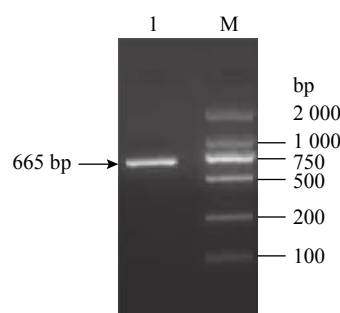
以 50 ng/ μ L 的睾丸 cDNA 为模板, 5 倍倍比

连续稀释获得 7 个标准品, 以 F₂/R₂ 为引物, 制作标准曲线。以各组织 cDNA 为模板, 以 *GAPDH* 为内参进行多组织 qPCR 表达水平检测。

2 结果与分析

2.1 *MEAI* 基因 RT-PCR 级序列分析结果

以 BMI 睾丸组织 cDNA 为模板, 扩增的 *MEAI* 基因长度为 665 bp (图 1)。将 F₁/R₁ 扩增产物测序结果使用 DNASTar 软件中的 SeqMan 程序进行组装, 获得 BMI *MEAI* 全长编码序列 525 bp, GenBank 登录号为 KU705641, 推测其包含 174 个氨基酸, 对应的氨基酸登录号为 AOC89059, 含有 1 个完整的保守结构域 MEA1, 属于 *MEAI* 超家族 (图 2)。



注: M. DL 2000 DNA 分子量标准; 1. *MEAI* PCR 产物。

Notes: M. DL 2000 DNA Marker; 1. *MEAI* PCR product.

图 1 *MEAI* 基因反转录 PCR 扩增结果

Fig. 1 The RT-PCR result of *MEAI* gene

1	ATGGCAGCAGTAGTTCTAGGGGAGACATCATGGGTCTGAACGTATCTTCCCAATCAG	60
1	M A A V V L G G D I M G P E R I F P N Q	20
61	ACTGAAGAAGCTCGGGCCACACAGGGCCCTACAGAAGGCACTGGGGATTGGAGCAGTGAG	120
21	T E E L G P H Q G P T E G T G D W S S E	40
121	GAGCCAGAGGAAGAGCAAGAGGAACAGGAACAGGCCAGCTGGCTACTCTACCAGCCC	180
41	E P E E E Q E E T G T G P A G Y S Y Q P	60
181	CTGAACCAAGATCCTGAACAAGAGGAGGTGGAGCTGGCACCAGTGGGAGATGGAGAAGAT	240
61	L N Q D P E Q E E V E L A P V G D G E D	80
241	GTAAGTGTGATATCCAGGATCGAATCCAGGCCTTGGGGCTTCATTGCCAGACCCCA	300
81	V V A D I Q D R I Q A L G L H L P D P P	100
301	TTAGAAAGTGAGGATGAAGATGAAGAGGGAGCTACAGCATTGAGCAACACAGCTCTATT	360
101	L E S E D E D E E G A T A L S N H S S I	120
361	CCCATGGACCCAGAACACGTAGAGCTGGTGAAGGACCATGGCTGGAGTAAGCCTGCCT	420
121	P M D P E H V E L V K R T M A G V S L P	140
421	GCGCCAGGGTTCCTGCCTGGGCTCGGGAGATATCAGATGCCCAATGGGAAGATGTGGTA	480
141	A P G V P A W A R E I S D A Q W E D V V	160
481	CAGAAGGCCCTCCAAGCCCGGACGGCCACCCCTGCCTGGAAGTGA	525
161	Q K A L Q A R Q A T P A W K *	174

注: ATG 表示起始密码子; 上面一行字母和下面一行字母分别表示核酸序列和其对应的氨基酸序列; “*”表示终止密码子。

Notes: ATG. start codon; the upper line letters represent nucleotide sequence; “*” stop codon.

图 2 *MEAI* 基因序列与氨基酸序列

Fig. 2 The gene sequence and amino acids sequence of *MEAI*

2.2 MEA1 基因组结构分析

为了获得 BMI MEA1 基因座的基因组 DNA, 利用获得的 BMI MEA1 CDS 序列作为种子序列, 在 NCBI 数据库中进行 BLAST 搜索, 找到 1 个含有 MEA1 CDS 全长的猪种混合染色体序列

(Sus scrofa chromosome 7, GenBank 登录号: NC_010449.5)。利用在线的 ensembl 分析 BMI MEA1 基因的外显子/内含子结构, 结果表明: BMI MEA1 基因长 2 368 bp, 含有 4 个外显子和 3 个内含子, 外显子—内含子剪接均符合 GT-AG 规则(图 3)。

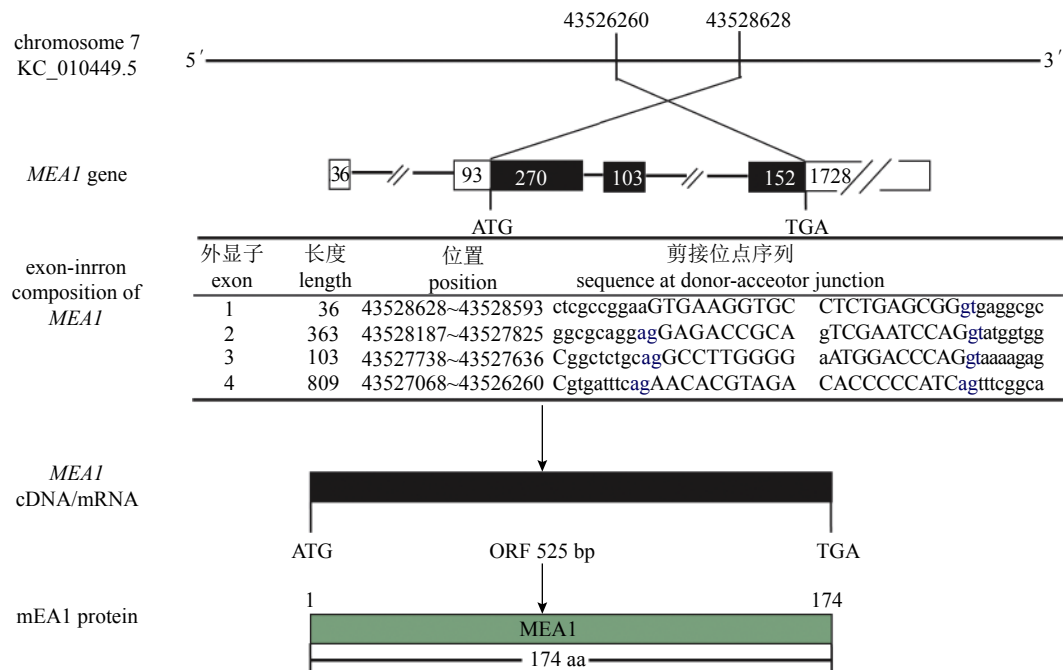


图 3 BMI MEA1 基因组、mRNA 和蛋白结构

Fig. 3 Genomic organization, mRNA and protein domain structure of BMI MEA1 gene

2.3 MEA1 蛋白质生物信息学分析结果

2.3.1 MEA1 蛋白质基本信息

BMI MEA1 蛋白质基本信息见表 1。

表 1 MEA1 蛋白质的基本信息

Tab. 1 Primary information of MEA1 protein

一级结构特性 primary structure characteristics	预测结果 prediction results
氨基酸数 the number of amino acids	174
分子量/ku molecular weight	18.77
等电点 isoelectric point	3.98
分子式 formula	C ₈₁₂ H ₁₂₄₉ N ₂₁₉ O ₂₈₅ S ₄
正电荷残基 positively charge residues	8
负电荷残基 negative charge residues	38
疏水性 hydropathicity	-0.705
不稳定系数 instability index	60.84

2.3.2 MEA1 蛋白质二级结构信息

BMI MEA1 蛋白质二级结构包含 54 个氨基酸构成的 α -螺旋结构 (31.03%), 95 个氨基酸构成的无规则卷曲结构 (54.60%), 14 个氨基酸构成的延伸链结构 (8.05%), 11 个氨基酸构成的 β -转角结构 (6.32%)。

2.3.3 MEA1 蛋白质的疏水性

BMI MEA1 蛋白质 N 端疏水, C 端亲水, 且在第 7 位置有最大疏水值 1.798, 在第 44 位置有最小疏水值-3.289。

2.3.4 MEA1 蛋白质功能活性位点分析

BMI MEA1 蛋白质包含 N-糖基化位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点和 N-豆蔻酰化位点 3 种功能位点(表 2)。

表 2 MEA1 蛋白质 3 种功能活性位点

Tab. 2 The three functional active sites of MEA1 protein

活性位点名称 active site	序列号 sequence No.	氨基酸位置 amino acids position
N-糖基化位点 N-glycosylation sites	PS00001	19~22: NQTE; 116~119: NHSS
酪蛋白激酶 II 磷酸化位点 casein kinase II phosphorylation sites	PS00006	38~41: SseE; 103~106: SedE
N-豆蔻酰化位点 N-myristoylation site	PS00008	50~55: GTgpAG

2.3.5 *MEAI* 蛋白质 N 端信号肽及跨膜螺旋

MEAI 蛋白质不包含 N 端信号肽序列, 不存在跨膜螺旋, 是非跨膜蛋白。

2.3.6 *MEAI* 蛋白质序列多物种系统进化分析

利用 MEGA 7.0 软件将 BMI *MEAI* 的蛋白质序列与绵羊 (XP_004018879)、人 (NP_001305871)、长臂猿 (XP_012351797)、黄牛 (NP_777073) 和牦牛 (XP_005900181) 等蛋白质序列进行了相似性比对, 结果显示相似度分别为 96.6%、96.5%、

96.0%、94.8% 和 94.8%。并构建 6 个物种的分子系统进化树 (图 4)。

2.4 *MEAI* 基因表达分析

以 *GAPDH* 为内参基因, 实时荧光定量检测 *MEAI* 基因 15 种组织的 mRNA 表达量, 用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析各组织相对表达水平, 结果发现: BMI *MEAI* 在睾丸中高表达, 在其他组织中均低表达 (图 5)。

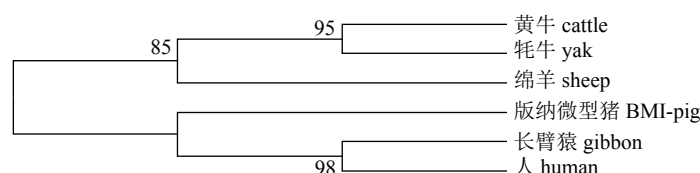
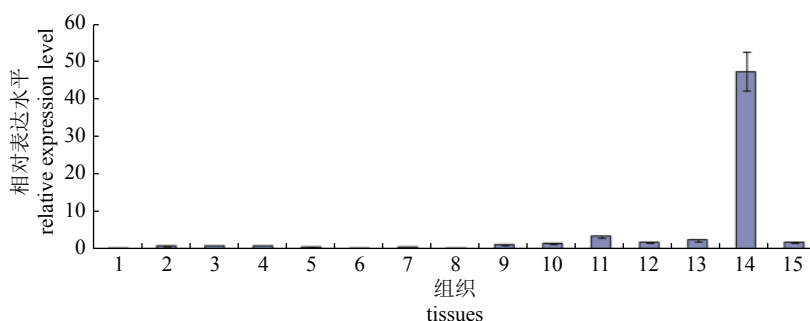


图 4 *MEAI* 氨基酸序列进化树

Fig. 4 The amino acids sequences phylogenetic tree of *MEAI*



注: 1. 心; 2. 肝; 3. 脾; 4. 肺; 5. 肾; 6. 胃; 7. 脑; 8. 肌肉; 9. 十二指肠; 10. 结肠; 11. 精囊腺; 12. 前列腺; 13. 尿道球腺; 14. 睾丸; 15. 附睾。
Note: 1. heart; 2. liver; 3. spleen; 4. lung; 5. kidney; 6. stomach; 7. brain; 8. muscle; 9. duodenum; 10. colon; 11. seminal vesicle gland; 12. prostate; 13. urethral ball glands; 14. testis; 15. epididymis.

图 5 *MEAI* 基因多组织相对表达水平

Fig. 5 Relative expression level of *MEAI* gene in multi-tissues

3 讨论

鉴于部分公猪不育已成为阻碍其群体数目继续扩大的主要瓶颈, 为了尽可能繁育更多亚系, 对其精子发生相关基因的研究尤为重要。近年来对于 *MEAI* 基因的结构与功能的研究越来越深入, 通过 SCOTT 等^[14]的研究发现: *MEAI* 可能是血清学检测的雄性候选抗原之一, 也可能是睾丸特异表达基因, 还可能是位于白细胞抗原和组织相容性抗原之间的重叠抗原基因, 但在版纳微型猪近交系的研究中尚属空白。因此, 通过生物信息学分析 *MEAI* 的氨基酸构成、C 端和 N 端氨基酸的特性, 以及这些氨基酸形成的功能位点、功能域, 还有卷曲折叠构成的二级结构等是很有必

要的。

蛋白质的结构与功能之间存在必然联系^[15], 功能生物信息学分析显示 BMI *MEAI* 蛋白质二级结构中无规则卷曲和 α 螺旋含量较高, 分别为 54.60% 和 31.03%, 无规卷曲是构成酶重要活性部位和蛋白质特异功能部位的二级结构元件, 而 α 螺旋是蛋白质二级结构中最常见、含量也较为丰富的结构元件^[15]。*MEAI* 蛋白含有 1 个完整的保守结构域, 属于 *MEAI* 超家族。

BMI *MEAI* 蛋白无 N 端信号肽序列, 表明其属于非分泌蛋白, 可直接进入到细胞质基质中发挥其功能。*MEAI* 蛋白无跨膜螺旋表明其属于非跨膜蛋白。化学修饰是蛋白质翻译后加工的重要

内容, N-糖基化在蛋白质折叠、运输等过程中扮演着重要角色, 蛋白质磷酸化可以大大提高酶蛋白的活性, 它们是蛋白质化学修饰的两种重要方式, 发现 MEA1 蛋白存在 N-糖基化功能位点、酪蛋白激酶 II 磷酸化功能位点、N-豆蔻酰化位点, 为今后深入进行 MEA1 蛋白的功能奠定了基础。

通过对比 BMI 猪、绵羊、人、长臂猿、黄牛和牦牛等物种的 MEA1 氨基酸序列, 发现其相似性均在 90% 以上, 说明该基因保守性较高。这几个物种 MEA1 蛋白质序列构建的系统进化树表明, 牛和羊聚为一类, 牛和羊均属于偶蹄目牛科动物, 牛和羊是人类驯化较早的家养动物; 人和长臂猿聚为一类, 然后与猪聚为一类, MEA1 基因编码的氨基酸与人类同源性更高, 保守性更好, 该基因在 BMI 中发挥的作用可能与人类更相似, 有望对人类疾病的探索提供一定的理论依据。

实时荧光定量多组织表达谱分析表明: MEA1 基因在 BMI 性腺睾丸中高表达, 在其他组织中微量表达, 由此推断该基因主要在猪的睾丸中发挥重要功能。睾丸是很重要的雄性生殖器官之一, 可产生精子, 分泌雄激素, 产生睾丸液, 维持精子的生成及存活^[16]。据报道, MEA1 基因已在小鼠^[4]中进行扩增并对多组织的表达情况进行了实验鉴定, 该基因在睾丸中明显高表达。我们研究发现 MEA1 基因在猪睾丸中也是高表达, 其结果一致, 说明该基因在睾丸组织中起着很重要的作用。

[参考文献]

- [1] LAU Y F, CHAN K M, SPARKES R. Male-enhanced antigen gene is phylogenetically conserved and expressed at late stages of spermatogenesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, 86(21): 8462. DOI: [10.1073/pnas.86.21.8462](#).
- [2] OHINATA Y, SUTOU S, MITSUI Y. *Peas-Mea1-Ppp2r5d* overlapping gene complex: a transposon mediated-gene formation in mammals[J]. DNA Research: an International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes, 2003, 10(2): 79. DOI: [10.1093/dnares/10.2.79](#).
- [3] KONDO M, KIMURA N, ITAGAKI Y, et al. Bovine male-enhanced antigen (*Mea*) gene is expressed in early embryos as revealed by the reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)[J]. Journal of Reproduction and Development, 1994, 40(4): 271. DOI: [10.1262/jrd.40.271](#).
- [4] OHINATA Y, SUTOU S, KONDO M, et al. Male-enhanced antigen-1 gene flanked by two overlapping genes is expressed in late spermatogenesis[J]. Biology of Reproduction, 2002, 67(6): 1824. DOI: [10.1095/biolreprod.101.002550](#).
- [5] 赵科伟. 7 号染色体共组繁殖性状 QTL 精细定位与位置候选基因鉴别研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2013.
- [6] GROBLER J, BAUER F, SUBDEN R E, et al. The *mael* gene of *Schizosaccharomyces pombe* encodes a permease for malate and other C₄ dicarboxylic acids[J]. Yeast, 1995, 11(15): 1485. DOI: [10.1002/yea.320111503](#).
- [7] MATSUDA M, KONDO M, KASHIWABARA S I, et al. Co-localization of Trax and Mea2 in Golgi complex of pachytene spermatocytes in the mouse[J]. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society, 2004, 52(9): 1245. DOI: [10.1369/jhc.4B6304.2004](#).
- [8] 赵科伟, 赵雪艳, 张志燕, 等. 公猪 7 号染色体繁殖性状 QTL 的精细定位和位置候选基因 MEA1 的鉴别研究[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(3): 363.
- [9] YU P, ZHANG L, LI S, et al. Screening and analysis of porcine endogenous retrovirus in Chinese Banna minipig inbred line[J]. Transplantation Proceedings, 2004, 36(8): 2485. DOI: [10.1016/j.transproceed.2004.07.055](#).
- [10] ZENG R, ZENG Y Z. Molecular cloning and characterization of *SLA-DR* genes in the 133-family of the Banna mini-pig inbred line[J]. Animal Genetics, 2005, 36(3): 267. DOI: [10.1111/j.1365-2052.2005.01277.x](#).
- [11] HUO J L, WANG P, ZHAO Y E, et al. Molecular cloning, mRNA expression and characterization of a novel *FAIMI* gene from Chinese Banna mini-pig inbred line (BMI)[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012, 11(8): 1080. DOI: [10.3923/javaa.2012.1080.1086](#).
- [12] WANG P, HUO H L, WANG S Y, et al. Cloning, sequence characterization, and expression patterns of members of the porcine TSSK family[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(4): 14908. DOI: [10.4238/2015.October.18.56](#).
- [13] WANG P, WANG S Y, QIN C Y, et al. Characterization and expression of *PGK2* and *PHKG2* in testis tissues from fertile and sterile Banna mini-pig inbred line (BMI)[J]. Research Journal of Biotechnology, 2015, 10(2): 28.
- [14] SCOTT D M, EHRMANN I E, ELLIS P S, et al. A male-specific transplantation antigen H-Y is encoded by *Smcy*, a putative transcription factor gene on the mouse Y chromosome[J]. Nature, 1995, 37: 6695.
- [15] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [16] 朱士恩. 家畜繁殖学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2011.

责任编辑: 何承刚