

网络出版时间:2018-12-04 10:11

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2019.06.001

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20181204.1010.002.html>

朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子多态性与 NDV 抗性的关联分析

崔小辉, 赵淑娟, 张小辉, 庞有志, 杨又兵, 白俊艳, 雷 莹

(河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

【摘 要】【目的】研究朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 1、2 和 3 外显子的多态性, 并与新城疫病毒抗性进行关联分析。【方法】采用胸肌注射的方法对 14 日龄朝鲜鹌鹑进行新城疫 La Sota 弱毒株攻毒, 每周注射 1 次, 连续攻毒 3 周后, 心脏采血, 采用 β -微量法测定血清中新城疫抗体水平。PCR 扩增朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因, 测序后采用 DNA Star、SPSS 等分析软件研究朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 1、2、3 外显子的多态性, 并分析不同基因型新城疫抗体水平的差异。【结果】朝鲜鹌鹑的新城疫抗体效价为 $2^6 \sim 2^{10}$ 。PCR 扩增获得了 1 290 bp 的 *MHC class I* 基因, 其编码区序列为 780 bp, 编码 259 个氨基酸。通过与已知序列日本鹌鹑 RNA(AB005528) 比对, 得到长度分别为 76、272 和 274 bp 的第 1、2 和 3 外显子。在第 1 外显子上未检测到突变点, 在第 2 和 3 外显子上共检测到 11 个突变位点(第 2 外显子上 4 个突变位点: 257 bp(A/C)、267 bp(A/T)、366 bp(A/G) 和 500 bp(T/G); 第 3 外显子上 7 个突变位点: 795 bp(T/C)、798 bp(T/C)、810 bp(T/G)、830 bp(A/G)、873 bp(A/T)、927 bp(A/G) 和 932 bp(C/G)), 均为中度多态基因座, 11 个突变位点中, 267 bp(A/T)、830 bp(A/G)、873 bp(A/T)、932 bp(C/G) 突变导致编码氨基酸改变, 500 bp(T/G)、873 bp(A/T)、932 bp(C/G) 突变位点基因型之间新城疫抗体水平存在显著差异 ($P < 0.05$)。【结论】朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子具有丰富的多态性, 并且与新城疫病毒抗性相关。

【关键词】 朝鲜鹌鹑; *MHC class I* 基因; 新城疫病毒抗性

【中图分类号】 S837.2

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2019)06-0001-06

Association of polymorphism in exons 2 and 3 of *MHC class I* gene of Korean quail and Newcastle disease virus resistance

CUI Xiaohui, ZHAO Shujuan, ZHANG Xiaohui, PANG Youzhi,
YANG Youbing, BAI Junyan, LEI Ying

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract: 【Objective】The study analyzed the allelic polymorphism of exons 1, 2 and 3 of *MHC class I* gene in Korean quail and the association with the Newcastle disease virus (NDV) resistance. 【Method】Based on conventional feeding method, fourteen-day-old Korean quails were challenged with La Sota attenuated strain of ND once a week by injection method. Three weeks after continuous challenge, blood samples were obtained from the heart. The β -micro method was used to determine the levels of NDV in serum. Amplification of *MHC class I* gene in Korean quail by PCR technology, DNA Star and SPSS were used to analyze the allelic polymorphism of *MHC class I* gene exons 2 and 3 and the NDV antibody differences among genotypes. 【Result】The ND antibody valence in Korean quail was $2^6 - 2^{10}$. PCR amplification obtained 1 290 bp DNA sequence and the coding region sequence was 780 bp, encoding 259 amino acids. DNA

【收稿日期】 2018-03-27

【基金项目】 河南省产学研合作项目(2015HNCXY012); 河南科技大学高级别项目培育基金项目(2015GJB028)

【作者简介】 崔小辉(1990—), 男, 河南商丘人, 硕士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: 1375455525@qq.com

【通信作者】 赵淑娟(1964—), 女, 河南巩义人, 教授, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: zsj90318@163.com

sequences of exons 1,2 and 3 of 76,272 and 274 bp were obtained by comparing with the known Japanese quail RNA (AB005528). No mutation was detected on exon 1, while 11 moderate polymorphic mutations loci were found in exons 2 and 3 (4 mutations loci on exon 2:257 bp (A/C),267 bp (A/T),366 bp (A/G),and 500 bp (T/G);7 mutations loci on exon 3:795 bp (T/C),798 bp (T/C),810 bp (T/G),830 bp (A/G),873 bp (A/T),927 bp (A/G),and 932 bp (C/G). The 267 bp (A/T),830 bp (A/G),873 bp (A/T),and 932 bp (C/G) mutations led to amino acid changes. There were significant differences in ND antibody levels between the 500 bp (T/G),873 bp (A/T) and 932 bp (C/G) mutation loci ($P<0.05$).【Conclusion】The exons 2 and 3 of Korean quail *MHC class I* gene had abundant polymorphism and close relationship with NDV resistance.

Key words: Korean quail; *MHC class I* gene; Newcastle disease virus resistance

主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex,MHC)基因是脊椎动物染色体上的一组紧密连锁、高度多态的基因群^[1-2],编码一组与免疫功能相关的细胞膜糖蛋白。研究表明,MHC在各种动物的免疫系统中起着至关重要的作用^[3],与抗原的识别呈递有关^[4-5]。*MHC*基因与畜禽许多生产性能相关,并与畜禽对许多疾病的易感性、抵抗力有关^[6-7]。在家禽上,根据 *MHC* 分子蛋白的类型,可将其分为 B-F(class I)、B-L(class II)和 B-G(class IV),目前以鸡的 *MHC* 基因研究最为深入^[8-9],Shiina 等^[10]将鸡的 *MHC* 基因长度确定为 242 kb,Delany 等^[11]利用荧光原位杂交技术获得了鸡 *MHC* 基因的结构模型。Wang 等^[12]研究表明,鸡的 *MHC class I* 基因的第 2、3 外显子与其免疫功能存在一定的关联。鹌鹑是重要的生产动物和实验动物,但关于鹌鹑 *MHC* 基因的研究报道甚少。为此,本试验研究了朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 1,2,3 外显子多态性,并探讨了其与新城疫病毒(Newcastle disease virus,NDV)抗性的关联性,旨在为鹌鹑的抗新城疫病毒种提供候选基因。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物与毒株 1 日龄朝鲜鹌鹑 300 只,由河南科技大学实验牧场提供。NDV La Sota 弱毒株,由洛阳惠中生物技术有限公司提供。SPF 鸡胚,由山东省农业科学院家禽研究所提供。

1.1.2 主要试剂 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒、2×PCR Mix (含 DNA Polymerase、dNTPs、优化的反应缓冲液),均购自上海生工生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 感染试验 将供试朝鲜鹌鹑按常规方式饲养至 14 日龄,采用胸肌注射的方法进行攻毒试验,

每只鹌鹑注射 0.2 mL 的新城疫 La Sota 弱毒株病毒液(病毒含量为 10^8 EID₅₀/mL),每周注射 1 次,连续攻毒 3 周。试验期间观察鹌鹑的临床症状,并在无菌条件下采集发病鹌鹑脑组织碾碎离心(10 000 r/min 离心 5 min),接种鸡胚,48 h 后采集尿囊液进行血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验^[13]。

1.2.2 血样采集与血清制备 于 35 日龄以心脏采血的方式采集朝鲜鹌鹑血液 3~5 mL/只,取 0.2 mL 血液与抗凝剂 ACD 按 4:1 的体积比混合均匀,用于提取 DNA;其余血样于 37℃保温箱中放置 2 h,然后在 4℃冰箱中放置一夜,待血清析出后,低温(4℃)低速(2000 r/min)离心 2 min,用移液枪吸取血清置于 1.5 mL EP 管中,-20℃冷藏备用。

1.2.3 新城疫抗体效价的测定 采用 β-微量法^[13]测定血清中新城疫抗体的效价。

1.2.4 基因组 DNA 的提取 取 20 μL 血样,按照 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取 DNA,使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA,检测合格后,-20℃保存备用。

1.2.5 *MHC class I* 基因的 PCR 扩增与测序 根据 GenBank 数据库公布的日本鹌鹑和鸡的 *MHC class I* 基因序列(GenBank 登录号分别为 AB005528 和 AL954802),利用软件 Primer premier 5.0 设计 1 对朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因的特异性引物:MHC-I F 5'-CGCTCCCGTTTACTATTG-3',MHC-I R 5'-ACTGGTACTTGTCTGCATCC-3'。引物由上海生工生物技术有限公司合成。

PCR 扩增 *MHC class I* 基因,反应体系为 20 μL:2×Easy Taq PCR Mix 10 μL,ddH₂O 7.6 μL,上、下游引物(10 pmol/μL)各 0.7 μL,模板 DNA (50 ng/μL) 1 μL。PCR 扩增程序如下:95℃预变性 5 min;95℃变性 30 s,56℃退火 30 s,72℃延伸 80 s,36 个循环;72℃巩固延伸 10 min。PCR 产物使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测,检测合格的样品

直接送上海生工生物技术有限公司测序。

1.2.6 *MHC class I* 基因多态性及其与 NDV 抗性的相关性分析 将测序的结果应用 DNA Star 软件进行组装分析,查找突变位点,根据测序图谱判定突变位点处的基因型,结合杂合度和多态信息含量,分析等位基因多态性。应用 SPSS 17.0 软件统计各突变位点不同基因型的新城疫抗体效价差异,并统计突变位点的等位基因频率、基因型频率,按照雷雪芹^[14]、甘乾福^[15]的方法统计各突变位点的杂合度和多态性信息含量(PIC),PIC<0.25 时,基因座位为低度多态基因座;0.25≤PIC≤0.5 时,基因座位为中度多态基因座;PIC>0.5 时,基因座位为高度多态基因座。

2 结果与分析

2.1 感染试验结果与病毒回收

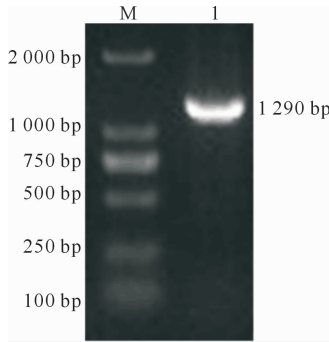
攻毒 36 h 后,个别鹌鹑出现食欲减退、体温升高等现象,发病鹌鹑出现翅下垂、歪头扭颈、站立不稳、转圈后退等新城疫典型症状。无菌条件下采集发病鹌鹑脑组织并碾碎离心,接种鸡胚后,采集尿囊液进行 HA、HI 试验检测,结果均检测到 NDV,表明发病鹌鹑的临床症状确是由新城疫病毒所致。

2.2 新城疫抗体效价的测定

采用 β-微量法测得 242 份血清样品的新城疫抗体效价为 2⁶,2⁷,2⁸,2⁹ 和 2¹⁰,对应的鹌鹑数量分别为 9,43,112,65 和 13 只。

2.3 *MHC class I* 基因的 PCR 扩增

对朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因进行 PCR 扩增,1%琼脂糖凝胶电泳检测结果显示,在 1 290 bp 处获得了清晰的目的条带(图 1),片段长度与预期结果相符。



M. DL2000 DNA Marker;1. PCR 扩增产物

M. DL2000 DNA Marker;1. PCR products

图 1 朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因的 PCR 扩增

Fig.1 PCR amplification of *MHC class I* gene in Korean quail

2.4 *MHC class I* 基因的序列分析

利用 DNA Star 软件对测序结果进行分析,结果表明 *MHC class I* 基因长度为 1 290 bp,编码区序列为 780 bp,编码 259 个氨基酸,其 G+C 含量为 67.29%,A+T 含量为 32.71%。将获得的朝鲜鹌鹑序列与日本鹌鹑 Coja-D RNA 序列(GenBank 登录号:AB005528)进行比对,发现 63—138,247—518 和 748—1 021 bp 序列分别对应第 1~3 外显子序列,长度分别为 76,272 和 274 bp。朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因序列与日本鹌鹑序列的同源性为 94%,与鸡的同源性为 87%。

2.5 *MHC class I* 基因的多态性分析

对 242 份血样均进行 PCR 扩增、测序,应用 DNA Star 软件对测序结果进行汇总,舍弃杂乱无章的测序图谱,共获得 220 份优良的测序结果。多态性分析结果(图 2)显示,在第 1 外显子上未检测到突变位点;在第 2 外显子上检测到 4 个突变位点,分别为:257 bp(A/C)、267 bp(A/T)、366 bp(A/G)和 500 bp(T/G);在第 3 外显子上检测到 7 个突变位点,分别为:795 bp(T/C)、798 bp(T/C)、810 bp(T/G)、830 bp(A/G)、873 bp(A/T)、927 bp(A/G)和 932 bp(C/G)。突变位点均为碱基替代,未发现碱基插入或缺失,并且都检测到了杂合位点。在 11 个突变位点中,有 7 个突变未导致氨基酸变异,为同义突变;有 4 个突变导致了氨基酸的改变,分别为第 2 外显子上的 267 bp(A/T)导致氨基酸由苯丙氨酸(F)变成酪氨酸(Y);第 3 外显子上的 830 bp(A/G)导致氨基酸由天冬酰胺(N)变成天冬氨酸(D),873 bp(A/T)导致氨基酸由苯丙氨酸(F)变成酪氨酸(Y),932 bp(C/G)导致氨基酸由脯氨酸(P)变成丙氨酸(A)。结果表明,第 3 外显子是朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因中多态性较为丰富的区域之一。

2.6 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子多态性与新城疫病毒抗性的相关性分析

由表 1 可知,11 个突变位点均存在 3 种基因型,等位基因频率最大的是 0.659,最小的是 0.341。这 11 个突变位点均是中度多态基因座,其 PIC 为 0.348~0.375。

应用 SPSS 17.0 软件统计各突变位点不同基因型之间新城疫抗体效价的差异,结果(表 1)表明,在第 2 外显子的 500 bp(T/G)突变位点中,AA 基因型的 ND 抗体效价显著高于 AB 基因型($P<0.05$);在第 3 外显子的 873 bp(A/T)突变位点中 AB 基因型的 ND 抗体效价显著高于 AA 基因型($P<$

0.05), 在 932 bp(C/G)突变位点中 AB 基因型的 ND 抗体效价显著高于 AA 基因型($P<0.05$); 其余

突变位点各基因型之间的 ND 抗体效价差异不显著。

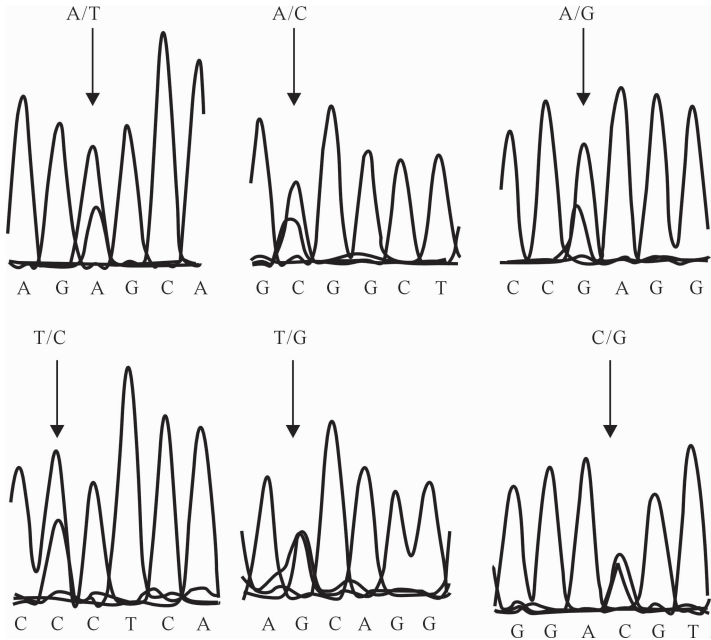


图 2 朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子上的碱基突变类型

Fig. 2 Base mutation types on exons 2 and 3 of *MHC class I* gene in Korean quail

表 1 朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子上 11 个突变位点的多态信息及新城疫(ND)抗体效价

Table 1 PIC and ND antibody valence of 11 mutation loci in Korean quail *MHC class I* gene exons 2 and 3

外显子 Exon	突变位点 Mutation site	基因型 Genotype	数量/只 Quantity	ND 抗体效价 (lb 对数值) ND antibody valence (lb value)	基因型频率 Genotype frequencies	等位基因 频率 Allele frequencies	杂合度 Heterozygosity	多态信息 含量 PIC
第 2 外显子 Exon 2	257 bp (A/C)	AA	96	8.14±1.51	0.436	A:0.559 B:0.441	0.493	0.371
		BB	70	8.20±1.10	0.318			
		AB	54	8.40±1.14	0.246			
	267 bp (A/T)	AA	38	7.33±1.23	0.173	A:0.341 B:0.659	0.449	0.348
		BB	108	8.14±1.30	0.491			
		AB	74	8.40±0.97	0.336			
	366 bp (A/G)	AA	72	7.11±0.78	0.327	A:0.427 B:0.573	0.489	0.369
		BB	104	8.22±1.39	0.473			
		AB	44	7.75±0.95	0.200			
	500 bp (T/G)	AA	106	8.62±0.74 a	0.481	A:0.550 B:0.450	0.495	0.372
		BB	84	8.10±1.10 ab	0.383			
		AB	30	7.33±0.57 b	0.136			
第 3 外显子 Exon 3	795 bp (T/C)	AA	64	8.14±1.46	0.291	A:0.355 B:0.645	0.457	0.352
		BB	128	8.17±1.35	0.582			
		AB	28	7.67±0.52	0.127			
	798 bp (T/C)	AA	58	7.63±1.51	0.264	A:0.350 B:0.650	0.455	0.351
		BB	124	8.07±1.23	0.564			
		AB	38	8.22±0.83	0.172			
	810 bp (T/G)	AA	46	8.28±1.21	0.209	A:0.341 B:0.659	0.449	0.348
		BB	116	8.33±1.32	0.527			
		AB	58	7.20±1.10	0.264			
	830 bp (A/G)	AA	72	7.71±1.25	0.327	A:0.473 B:0.527	0.499	0.375
		BB	84	8.11±1.36	0.382			
		AB	64	7.80±1.48	0.291			

表 1(续) Continued table 1

外显子 Exon	突变位点 Mutation site	基因型 Genotype	数量/只 Quantity	ND 抗体效价 (lb 对数值) ND antibody valence (lb value)	基因型频率 Genotype frequencies	等位基因 频率 Allele frequencies	杂合度 Heterozygosity	多态信息 含量 PIC
第 3 外显子 Exon 3	873 bp (A/T)	AA	66	7.20±1.03 b	0.300	A:0.527 B:0.473	0.499	0.375
		BB	54	7.90±1.13 ab	0.246			
		AB	100	8.54±0.82 a	0.454			
	927 bp (A/G)	AA	46	7.75±1.40	0.209	A:0.414 B:0.586	0.485	0.367
		BB	84	8.12±1.13	0.382			
		AB	90	8.44±0.93	0.409			
	932 bp (C/G)	AA	56	7.16±0.98 b	0.255	A:0.514 B:0.486	0.500	0.375
		BB	51	8.12±1.05 ab	0.227			
		AB	140	8.50±1.08 a	0.518			

注:同一突变位点不同基因型 ND 抗体水平后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Note:Different lowercase letters indicate significant difference among genotypes of ND antibodies at same mutation loci ($P<0.05$).

3 讨 论

抗病育种是遗传育种研究的一个重要方向^[16-17]。Zhou 等^[18]研究表明,鸡 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子 SNP 位点与肠炎沙门氏菌(SE)的抗体应答显著关联。本研究结果显示,朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 2 外显子上有 4 个突变位点,第 3 外显子有 7 个突变位点。第 2 外显子上 500 bp (T/G)突变位点不同基因型的新城疫抗体水平差异显著($P<0.05$),第 3 外显子上的 873 bp(A/T)、932 bp(C/G)突变位点不同基因型的新城疫抗体水平差异显著($P<0.05$),表明朝鲜鹌鹑 *MHC class I* 基因第 2、3 外显子的多态性与 NDV 抗体水平的高低显著相关。

MHC I 类抗原的肽结合区又称肽结合槽,由 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 两个结构域组成。Xia 等^[19-20]研究表明,鸡、鸭、鹅、鹌鹑等禽类的 *MHC class I* 基因结构相似,第 2、3 外显子编码 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 区域。肽结合槽呈现出凹凸不平的形状,称之为结合口袋^[21-23],MHC I 类分子与抗原多肽的结合通常受这些结合口袋限制。 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 结构域的氨基酸组成和排列顺序是构成 MHC I 类抗原结合口袋的分子基础^[24-25]。本研究中,*MHC class I* 基因第 2、3 外显子的 267 bp(A/T)、830 bp(A/G)、873 bp(A/T)、932 bp(C/G)突变位点导致了其编码氨基酸残基的改变,其中 873 bp(A/T)突变导致氨基酸由苯丙氨酸(F)变成酪氨酸(Y),932 bp(C/G)突变导致氨基酸由脯氨酸(P)变成丙氨酸(A),这 2 处突变对应的 NDV 抗体水平在不同基因型之间呈现显著差异($P<0.05$),267 bp(A/T)、830 bp(A/G)突变并未出现 ND 抗体水平的显著差异。推测在自然选择的过程中,第 873 bp(A/T)、932 bp(C/G)突变使朝鲜鹌鹑的免疫功

能更加适应环境。Liu 等^[26]在研究鸡 *MHC* 基因多态性与肠炎沙门氏菌(SE)感染及疫苗免疫反应的关系时发现,当 *MHC class I* 基因 $\alpha 2$ 结构域的氨基酸 K¹⁴⁸变成 M¹⁴⁸时,可以改变 $\alpha 2$ 结构域的 3D 结构,影响结合和呈递 SE 抗原的能力,表明 *MHC class I* 基因多态性与 SE 的免疫反应有关联。这与本研究的上述结果一致,但本研究发现的导致氨基酸转变的突变位点,是否改变了编码朝鲜鹌鹑肽结合区结合口袋的 3D 结构,尚需进一步验证。

[参考文献]

[1] Klein J,Satta Y,Takahata N,et al. The moulecular descent of the major histocompatibility complex [J]. Annual Review of immunology,1993,11(1):269-295.
[2] Grubic Z,Jankovic K S,Maskalan M,et al. The effect of HLA allele and haplotype polymorphisms on donor matching in hem-atopoietic stern cell transplantation croatian experience [J]. Human Immunology,2016,77(12):1120-1127.
[3] Morita D,Yamamoto Y,Mizutani T,et al. Crystal structure of the N-myristoylated lipopeptide-bound MHC class I complex [J]. Nature Communications,2016,7:10356-10367.
[4] Backer M. Accessory proteins and the assembly of human class I MHC molecules;a molecular and structural perspective [J]. Molecular Immunology,2003,39:697-706.
[5] Carlini F,Ferreira V,Buhler S,et al. Association of HLA-A and non-classical HLA class I alleles [J]. PloS One,2016,11(10):e0163570.
[6] Biedrzycka A,Kloch A. Development of novel associations between MHC alleles and susceptibility to parasitic infections in an isolated population of an endangered mammal [J]. Infection Genetics and Evolution,2016,44:210-217.
[7] Micheli A. A rare constellation of serum cholinesterase genetic variants [J]. Enzyme,1972,13(5/6):305-310.
[8] van H A,Carter R,Bailey A,et al. A mechanistic basis for the co-evolution of chicken tapasin and major histocompatibility complex class I (MHC I) proteins [J]. Journal of Biological

- Chemistry, 2013, 288(45): 32797-32808.
- [9] Bauer M M, Miller M M, Briles W E, et al. Genetic variation at the MHC in a population of introduced wild turkeys [J]. Animal Biotechnology, 2013, 24(3): 210-228.
- [10] Shiina T, Briles W E, Hosomichi K, et al. Extended gene map reveals tripartite motif, C-type lectin, and Ig superfamily type genes within a subregion of the chicken MHC-B affecting infectious disease [J]. Journal of Immunology, 2007, 178(1): 7162-7172.
- [11] Delany M E, Robinson C M, Goto R M, et al. Architecture and organization of chicken micro chromosome 16: order of the NOR, MHC-Y, and MHC-B subregions [J]. Journal of Heredity, 2009, 100(5): 507-514.
- [12] Wang Y, Qiu M, Yang J, et al. Sequence variations of the *MHC class I*, gene exon 2 and exon 3 between infected and uninfected chickens challenged with Marek's disease virus [J]. Infection Genetics and Evolution, 2014, 21: 103-109.
- [13] 姚火春. 兽医微生物学实验指导 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- Yao H C. Veterinary microbiology experimental guidance [M]. 2nd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2002.
- [14] 雷雪芹. 牛羊多态性状的四种分子遗传标记研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- Lei X Q. Study on four molecular genetic markers of polymorphic traits in cattle and sheep [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2005.
- [15] 甘乾福. 福建黄牛地方品种遗传多样性研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2006.
- Gan Q F. Study on genetic diversity of local breed of Fujian Yellow Cattle [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture And Forestry University, 2006.
- [16] Deist M S, Gallardo R A, Bunn D A, et al. Resistant and susceptible chicken lines show distinctive responses to Newcastle disease virus infection in the lung transcriptome [J]. BMC Genomics, 2017, 18(1): 989-1004.
- [17] Das M, Kumar S. Recombinant phosphoprotein based single serum dilution ELISA for rapid serological detection of Newcastle disease virus [J]. Journal of Virological Methods, 2015, 225: 64-69.
- [18] Zhou H, Lamont S J. Chicken *MHC class I* and *II* gene effects on antibody response kinetics in adult chickens [J]. Immunogenetics, 2003, 55(3): 133-140.
- [19] Xia C, Lin Y, Hu T J, et al. cDNA cloning and genomic structure of the duck (*Anas platyrhynchos*) *MHC class I* gene [J]. Immunogenetics, 2004, 56: 306-309.
- [20] Xia C, Hu T J, Yang T Y, et al. cDNA cloning, genomic structure and expression analysis of the goose (*Anser cygnoides*) *MHC class I* gene [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2005, 107(3/4): 291-302.
- [21] Altmann D M, Hogg N, Trowsdale J, et al. Cotransfection of ICAM-1 and HLA-DR reconstitutes human antigen-presenting cell function in mouse L cells [J]. Nature, 1999, 338(6215): 512-514.
- [22] Fremont D H, Matsumura M, Stura E A, et al. Crystal structures of two viral peptides in complex with murine *MHC class I* H-2Kb [J]. Science, 1992, 257(5072): 919-927.
- [23] Madden D R, Garboczi D N, Wiley D C. The antigenic identity of peptide-MHC complexes: a comparison of the conformations of five viral peptides presented by HLA-A2 [J]. Cell, 1993, 75(4): 693-708.
- [24] Paul S, Weiskopf D, Angelo M A, et al. HLA class I alleles are associated with peptide binding repertoires of different size, affinity and immunogenicity [J]. Journal of Immunology, 2013, 191(12): 5831-5839.
- [25] Bolton L, Bailey A, Findlow S, et al. Structural plasticity and antigen selection by *MHC I* [J]. Molecular Immunology, 2015, 68(2): 143-145.
- [26] Liu W, Miller M M, Lamont S J. Association of *MHC class I* and class *II* gene polymorphisms with vaccine or challenge response to *Salmonella enteritidis* in young chicks [J]. Immunogenetics, 2002, 54: 582-590.