

# 福建省商业猪种 *MUC13*、*IGF2* 和 *RYR1* 基因主效位点的遗传变异分析

阮国荣<sup>1,2</sup>, 肖石军<sup>2</sup>, 徐盼<sup>2</sup>, 刘亚轩<sup>3</sup>, 陈金雄<sup>1</sup>, 江宵兵<sup>4</sup>

(1. 福建农业职业技术学院, 福建 福州 350119; 2. 江西农业大学 动物生物技术国家重点实验室培育基地, 江西南昌 330045; 3. 福建光华百斯特生态农牧有限公司, 福建 尤溪 365100; 4. 福建省畜牧兽医总站, 福建 福州 350003)

**摘要:**选择决定新生仔猪 ETEC F4ac 腹泻抗性的黏附素 13(*MUC13*) 基因, 影响生长速度和背膘厚的 *IGF2* 内含子 3 g. 3072G > A, 决定氟烷敏感性的 *RYR1* c. 1843C > T 等 3 个对养猪生产具有显著影响的基因位点, 采用 PCR-RFLP 或 PCR-SNaPshot 方法, 对福建省 6 家大型种猪场的杜洛克、长白、大白核心育种群进行基因型判定。结果表明: 杜洛克、长白、大白的 *MUC13* 有利等位基因频率分别为 0.892、0.643、0.638, *IGF2* 有利等位基因频率分别为 0.933、0.742、0.826, *RYR1* 有利基因型频率很高, 分别为: 0.896、0.982、0.968。*RYR1*、*IGF2* 与 *MUC13* 的有利等位基因型组合个体比例在各品种中差异较大, 以杜洛克最高(65.4%), 大白其次(28.4%), 长白最低(19.9%)。因此, 与常规育种技术相结合, 需经过多世代选育才能将此 3 个主效位点的有利等位基因在受试种群中选育纯合。

**关键词:** *MUC13*; *IGF2*; *RYR1*; 主效突变位点; 猪

中图分类号: S828.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)05-0997-06

## Genetic Variation of *MUC13*, *IGF2* and *RYR1* Causative Mutations in Commercial Pig Breeds in Fujian Province

RUAN Guo-rong<sup>1,2</sup>, XIAO Shi-jun<sup>2</sup>, XU Pan<sup>2</sup>,  
LIU Ya-xuan<sup>3</sup>, CHEN Jin-xiong<sup>1</sup>, JIANG Xiao-bin<sup>4</sup>

(1. Fujian Vocational College of Agriculture, Fuzhou 360119, China; 2. Candidate of National Key Laboratory for Animal Biotechnology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 3. Fujian Guang-hua Best Eco-agriculture Development Co. Ltd., Youxi 365100, China; 4. Fujian Animal Husbandry Service Station, Fuzhou 350003, China)

**Abstract:** *MUC13* governs susceptibility / resistance to ETEC F4ac diarrhea in pighlets. *IGF2* intron 3 g. 3072G > A is a causal variant affecting muscle growth and backfat thickness. *RYR1* c. 1843C > T is responsible for malignant hyperthermia in pigs. In this study, PCR-RFLP or PCR-SNaPshot assay was used to genotype animals from nucleus pig populations in Fujian Province for the 3 causal variants. The results showed that the favorable allele frequencies of *MUC13* were 0.892, 0.643 and 0.638 in duroc, landrace and large white, respectively; and those of *IGF2* were 0.933, 0.742 and 0.826 in the three commercial breeds, respectively. Much higher favorable allele frequencies of *RYR1* were observed with 0.896, 0.982 and 0.968 separately in the three breeds. Animals with favorable allele combination of *RYR1*, *IGF2* and *MUC13* were most prevalent

收稿日期: 2012-06-14 修回日期: 2012-08-04

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2010N0012)

作者简介: 阮国荣(1965—), 男, 高级畜牧师, 博士生, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: rgr001@126.com。

in Duroc with a frequency of 65.4% while 28.4% in landrace and the lowest 19.9% in large white. Therefore, favorable alleles could be fixed in the tested breeds by marker-assisted selection through multi-generations in combination of routine breeding techniques.

**Key words:** *MUC13*; *IGF2*; *RYR1*; causative mutation; pig

随着养猪业集约化、专业化水平的不断提高, 培育杜洛克、长白、大白等主流商业品种内各具特色的专门化新品系, 通过配合力测定建立配套系已成为世界种猪业发展的主导方向, 国际大型猪育种公司都已把培育多元化品系作为应变未来不同市场需求的策略。鉴别和应用重要经济性状的主效基因或分子标记, 建立分子标记聚合育种、全基因组选择等新型高效育种手段, 结合常规育种技术, 以配套系的形式持续选育提高引进商业猪种, 是未来我国养猪业发展的必由之路<sup>[1-3]</sup>。

本研究选择 3 个对养猪生产具有显著影响的主效基因位点, 包括决定新生仔猪产肠毒素大肠杆菌 (ETEC) F4ac 腹泻易感性的 *MUC13* 基因<sup>[4]</sup>, 影响生长速度和背膘厚的类胰岛素生长因子 2 (*IGF2*) 基因内含子 3 g. 3072G > A 突变<sup>[5-9]</sup>, 决定氟烷敏感抗性的兰定尼受体 1 (*RYR1*) 基因 c. 1843 C > T 位点<sup>[10-11]</sup>, 采用 PCR-RFLP 或 PCR-SNaPshot 方法, 在福建厦门、福清、三明、龙岩等 6 家大型种猪场的杜洛克、长白、大白等引进猪种核心育种群中, 对 *MUC13*、*IGF2* 和 *RYR1* 基因主效突变位点进行检测, 应用于各猪场核心群的选育改良, 以期降低猪群的腹泻发病率, 提高猪产肉量, 剔除氟烷应激敏感基因。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

实验动物来自福建光华百斯特生态农牧发展有限公司、厦门国寿种猪开发有限公司、福建永诚畜牧有限公司、龙岩市龙马畜牧饲料有限公司种猪场、龙岩市万龙原种猪发展有限公司、龙岩市晨兴养殖有限公司等 6 家种猪场。样本总数 1 879 头, 其中杜洛克 629 头, 长白 627 头, 大白 623 头。采样时将待检测猪的耳尖用酒精消毒后, 用耳号钳剪取耳组织样品 2 ~ 3 g, 放入盛有体积分数为 75% 酒精的 1.5 mL Eppendorf 管内, 低温保存。采用常规的苯酚/氯仿/异戊醇法提取基因组 DNA, 统一稀释至 20 ng/μL。

### 1.2 基因型判定

PCR 引物由上海生工生物有限公司合成。各主效基因位点的引物序列及其判型方法见表 1。PCR 反应体系总体积为 20 μL, 包括模板 DNA 40 ng, 10 × buffer 2.0 μL, 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 1.2 μL, 10 mmol/L dNTP 0.3 μL, Fp 0.4 μL, Rp 0.4 μL, Taq 聚合酶 0.5 μL, 超纯水 13.2 μL。PCR 循环参数: 94 °C 变性 3 min, 94 °C 30 s, 退火温度(表 1) 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 36 个循环。

表 1 PCR 引物及其判型方法

Tab. 1 PCR primer and genotyping method

位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer (5'-3')	目的片段 /bp Amplicon	退火温度 /°C T <sub>m</sub>	判型方式 Genotyping method
<i>MUC13</i>	Fp: GGA GAG ACC AAA CCC ACA GA Rp: CTC CTC ACC AGC TCC TTA GC Snapshot: TTT TTT TTT TTT TTT CCA TGT ACA TTT CAG AGT CTG AGG GAT	280	61	SNaPshot
<i>IGF2</i> intro3 g. 3072G > A	Fp: ACT GTT GAA GTC CCC GAG AG Rp: GAA GGG AGG AAG CCG AGA G Snapshot: TTT TTT TTT TTC CGG GCC GCG GCT TCG CCT AGG CTC	250	66	SNaPshot
<i>RYR1</i> c. 1843 C > T	Fp: TCC AGT TTG CCA CAG GTC CTA CCA Rp: ATT CAC CGG AGT GGA GTC TCT GAG	700	63	内切酶 <i>Hha</i> I

1.2.1 PCR-SNaPshot 法 采用 PCR-SNaPshot 判定 *MUC13* 和 *IGF2* 基因型,反应体系为 5  $\mu$ L 包含 1.5  $\mu$ L 纯化后 PCR 产物 2  $\mu$ L SNaPshot multiplexmix (含 *Taq* 聚合酶和荧光标记的 dd-NTPs) 1.2  $\mu$ L 去离子水 0.3  $\mu$ L SNaPshot 引物。SNaPshot 反应体系的扩增程序为:96  $^{\circ}$ C 10 s 50  $^{\circ}$ C 5 s 60  $^{\circ}$ C 30 s 25 个循环。然后在 SNaPshot 反应产物中加 0.57  $\mu$ L 1  $\times$  NEB buffer 和 0.1  $\mu$ L 的 CIP 纯化酶,37  $^{\circ}$ C 反应 60 min 以清除荧光标记的 ddNTPs,随后 75  $^{\circ}$ C 反应 15 min 灭活纯化酶。最后,每 1  $\mu$ L SNaPshot 反应产物加 8  $\mu$ L Hi-Di formamide 与 GeneScan 120 LiZ size standard 混合物(两者比例为 20:1),经变性后上样于 ABI 3130XL 遗传分析仪(ABI,USA)进行电泳,利用 GeneMapper Software version 4.0(ABI,USA)进行基因型判定和数据收集。

1.2.2 PCR-RFLP 法 利用 *Hha* I PCR-RFLP 法检测 *RYR1* c. 1843 C > T 位点的基因型,PCR-RFLP 检测酶切反应体系及条件为:PCR 产物 6  $\mu$ L *Hha* I 内切酶 1U(NEB,英国) 酶切缓冲液 1.5  $\mu$ L,加水至总体积为 15  $\mu$ L。37  $^{\circ}$ C 水浴 4 h 以上或过夜。当 *RYR1* 基因型为 NN 时,*Hha* I 可将 PCR 扩增的 659 bp 特异片段酶切成 493 bp 和 166 bp 两条带;当 *HAL* 基因型为 nn 时,*Hha*I 限制酶识别位点消失,电泳后只有 659 bp 1 条带;当 *HAL* 基因型为 Nn 时,可以观察到 659 bp、493 bp、166 bp 3 条带。

## 2 结果与分析

### 2.1 *MUC13* 基因的基因频率和基因型频率

各品种的 *MUC13* 基因型频率及基因频率的分布见表 2。结果表明,各品种均有一定程度的有利等位基因 杜洛克有利(抗性)等位基因频率最高,达 0.892。

表 2 各品种 *MUC13* 基因的基因型频率和基因频率

Tab.2 The genotype and allele frequency of *MUC13* in the tested breed

品种 Breed	头数 No.	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency	
		AA	AG	GG	A	G
杜洛克 Duroc	618	0.003(2)	0.210(130)	0.786(486)	0.108	0.892
长白 Landrace	616	0.115(71)	0.484(298)	0.401(247)	0.357	0.643
大白 Large white	602	0.158(95)	0.409(246)	0.434(261)	0.362	0.638
合计 Total	1836	0.092(168)	0.367(674)	0.542(994)	0.275	0.725

G 等位基因为抗性有利基因,A 等位基因为易感不利基因。AA 和 GA 为腹泻易感个体,GG 为腹泻抗性个体,括号内数字为个体数。

G is the favorable resistant allele, A is the unfavorable susceptible allele. piglets with AA and GA genotypes are diarrhea-susceptible individuals, while GG piglets are diarrhea-resistant individuals, Number in bracket is the amount of animal.

### 2.2 *IGF2* 基因的基因频率和基因型频率

各品种 *IGF2* intro3 g. 3072G > A 基因型频率及基因频率的分布见表 3。结果表明:杜洛克群体有

表 3 各品种 *IGF2* 基因的基因型频率和基因频率

Tab.3 The genotype and allele frequency of *IGF2* in the tested breed

品种 Breed	头数 No.	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency	
		AA	AG	GG	A	G
杜洛克 Duroc	323	0.892(288)	0.084(27)	0.025(8)	0.933	0.067
长白 Landrace	372	0.573(213)	0.339(126)	0.089(33)	0.742	0.258
大白 Large white	516	0.709(366)	0.233(120)	0.058(30)	0.826	0.174
合计 Total	1 211	0.716(867)	0.225(273)	0.059(71)	0.829	0.171

A 等位基因是有利等位基因,AA 纯合子个体与 GG 相比,可提高约 3% 的产肉量。但该位点在遗传上有独特的父本表达印迹遗传效应,即子代只有从父本继承到 A 有利等位基因才能表现出优势表型。

A is the favorable allele, AA individual has about 3% higher lean production than GG individual. This locus has a special paternally-expressed imprinting effect, only progeny inherited the paternal A favorable allele show a dominant phenotype.

利基因频率为 0.933 ,A 等位基因在杜洛克中已基本纯合,这与 Objeda 等<sup>[12]</sup> 研究结果一致。长白猪和 大白猪均有较高的 A 等位基因频率,分别为 0.742 和 0.826。

### 2.3 RYR1 基因的基因频率和基因型频率

各品种 RYR1 c.1843 C>T 基因型频率及基因频率的分布见表 4。结果表明:各品种群体均有极高的有利基因型频率,仅有 1 家猪场有 1 头 nn 基因型氟烷应激个体;每个猪场杜洛克、长白、大白群体有少量的 Nn 基因型杂合子,以杜洛克群体 Nn 基因型个体比例为高,达 10.2%。

表 4 各品种 RYR1 基因的基因型频率和基因频率

Tab.4 The genotype and allele frequency of RYR1 in the tested breed

品种 Breed	头数 No.	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency	
		nn	Nn	NN	n	N
杜洛克 Duroc	364	0.003(1)	0.102(37)	0.896(326)	0.054	0.946
长白 Landrace	280	0.000(0)	0.018(5)	0.982(275)	0.009	0.991
大白 Large white	370	0.000(0)	0.032(12)	0.968(358)	0.016	0.984
合计 Total	1 014	0.001(1)	0.053(54)	0.946(959)	0.054	0.946

nn 基因型为氟烷敏感隐性纯合子,容易发生应激导致死亡,屠宰后容易产生 PSE 肉; Nn 和 NN 基因型表现为氟烷抗 应激表型。

Recessive homozygous (nn) individuals are susceptible to malignant hyperthermia to die and cause pale, soft and exudative (PSE) pork after slaughter; Nn and NN individuals show resistance to malignant hyperthermia.

### 2.4 不同品种 RYR1、IGF2 与 MUC13 的基因型组合分布

杜洛克、长白、大白猪群 RYR1、IGF2 与 MUC13 基因型组 合分布见图 5 6 7。

结果表明:在所检测的群体 中,杜洛克猪群 RYR1、IGF2、 MUC13 基因均为有利基因型组 合 NN/AA/GG 的个体数为 212 头,占群体总量的 65.4% (212/ 324);长白猪群有利基因型组合 NN/AA/GG 的个体数为 73 头, 占群体总量的 19.9% (73/367); 大白猪群有利基因型组合 NN/ AA/GG 的个体数为 143 头,占检 测群体总量的 28.4% (143/ 503)。

## 3 讨论

### 3.1 关于 MUC13 基因的选育

断奶前仔猪腹泻是养猪生产 中的常见疾病,给世界养猪业造 成了巨大的经济损失。据保守估 计,我国每年至少有 1 000 万头 断奶前仔猪腹泻致死病例,由此 造成巨额经济损失。而产肠毒素大肠杆菌(ETEC) F4ac 是引发断奶前仔猪腹泻的最主要致病菌。江西 农业大学动物生物技术国家重点实验室培育基地自 2002 年以来,通过全基因组连锁定位分析、目的区

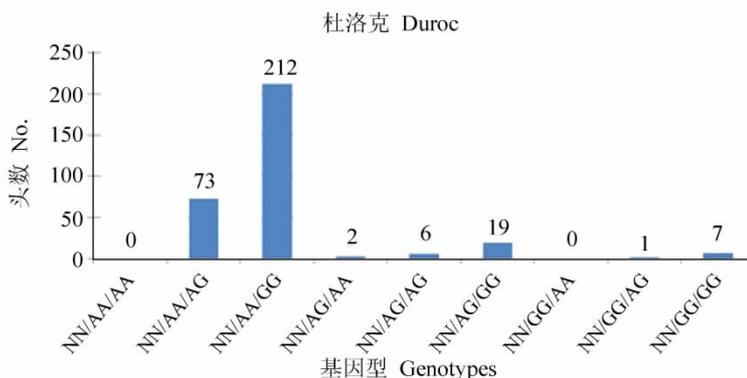


图 1 杜洛克猪群 RYR1、IGF2 与 MUC13 的基因型组合分布图  
Fig.1 Distribution of RYR1, IGF2, MUC13 genotype combinations in duroc pigs

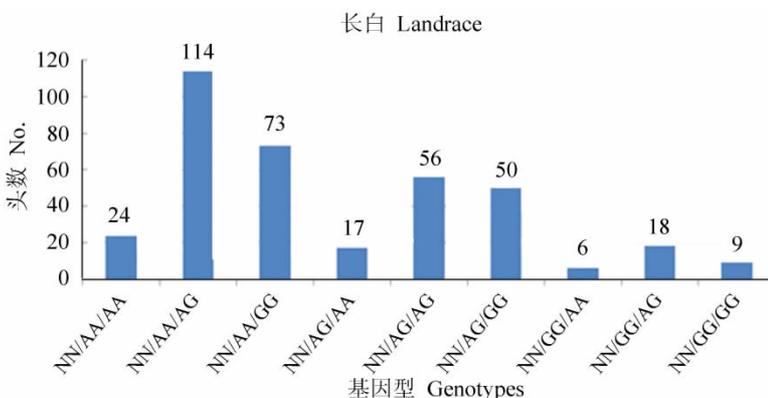


图 2 长白猪群 RYR1、IGF2 与 MUC13 的基因型组合分布图  
Fig.2 Distribution of RYR1, IGF2, MUC13 genotype combinations in landrace pigs

域的断点重组分析和远缘群体的高通量 SNPs 标记关联性分析等严谨的遗传研究手段,确定了 *MUC13* 为决定断奶前仔猪腹泻易感性的 ETEC F4ac 受体基因。通过来自 292 头纯种及 1 315 杂种个体的屠宰测定验证,发现了对 ETEC F4ac 易感和抗性个体鉴别准确率大于 97% 的关键突变位点,由此建立了高精度的、具有完全自主知识产权的断奶前仔猪腹泻抗病育种新技术。

本研究对 *MUC13* 的关键变异位点进行了检测,结果显示,杜洛克群体有利(抗性)等位基因频率很高,这与生产上杜洛克种猪腹泻比例总体较低现状吻合,杜洛克猪群只需进行少量个体的淘汰,其中 AA 基因型公母猪、AG 基因型公猪一次性淘汰,AG 基因型母猪根据生产性能尽量减少选留,经过 2~3 个世代选育即可育成抗断奶前 ETEC F4ac 腹泻纯系。长白、大白猪群不利等位基因频率较高,表明需要经过多世代选育,在兼顾表型选择和性能测定的前提下,逐世代加大 GG 纯合抗性个体的选留比例,逐步淘汰 AA 和 GA 易感型个体,使育种群中有利基因频率加大,以增加种群对仔猪腹泻的抗性。

现场选种实践中,为了提高新生仔猪腹泻抗性,建议采用两阶段选育的育种策略。在仔猪出生时采集耳样进行 *MUC13* 基因检测,根据基因型选择合适数量的群体进行性能测定,性能测定结束后,利用个体性能测定数据结合系谱信息,根据 EBV 指数的高低排序,由高至底进行选种。具体选配时优先选择抗性公猪配种;需要使用易感公猪时,尽量使用杂合子个体;尽量避免抗性母猪与易感公猪配种。然而,仔猪腹泻受多种因素影响(细菌/病毒/寄生虫/营养/饲养管理),在开展基因育种的同时,仍需兼顾免疫、饲料和环境控制等方面,以进一步降低仔猪(特别是断奶仔猪)腹泻的发病率。

### 3.2 关于 *IGF2* 基因的选育

杜洛克、长白、大白是目前我国养猪生产中的主流商业猪种,均为高度选育品种,特别在产肉性能方面经历了强选择压力。本研究揭示 *IGF2* 增加产肉量的有利基因频率在这些品种中的频率较高,符合品种的选育历史现状。在选育过程中,对于专门化父系,建议淘汰 GG 型个体,GA 个体若是母猪可以保留;若是公猪,在条件许可的情况下予以淘汰。通过 2~3 个世代的选育,有望将有利等位基因 A 在种群中固定。在纯繁或杂交生产商品猪时,尽量选择 AA 型公猪个体,以提高后代的生长性能。

Stinckens 等<sup>[13]</sup>在大规模生产母猪群体(包括 555 头来自合成系母猪以及 111 330 头纯种长白母猪)中开展了 *IGF2* 基因 g. 3073 G>A 的检测及其与母猪繁殖性状的相关性分析,结果表明来自父本的有利于肌肉生长和瘦肉率的 AA 等位基因型与母猪的产仔数及使役年限呈显著负相关,并推测这种负面效应可能是由于瘦肉率的增加和低脂肪沉积所致。该研究揭示了 *IGF2* 基因 QTN(g. 3073 G>A) 效应对种母猪具有两面性:一方面能够增加胴体瘦肉率与降低背膘厚,另一方面会造成母猪的产仔数及使役年限的下降。基于此,针对 *IGF2* 基因的专门化品系选育最佳模式为:父系应该持续选留能够增加瘦肉率的 AA 基因型个体,而母系应该选择能够提高母猪繁殖力的 GG 型个体。由于 *IGF2* 基因为父本印迹基因<sup>[14-15]</sup>,来自于母本的 G 等位基因在后代中被沉默,因而不会影响商品代个体的瘦肉率。采用这种模式进行配套系选育时,最终的商品猪既可提高生长速度,又可兼顾产仔数。本研究中的 *IGF2* g. 3073 G>A 的检测结果显示将有利于受试种群的分化定向选育改良。

### 3.3 关于 *RYR1* 基因的检测

在本研究中,各受试群体的氟烷敏感抗性基因频率很高,但一部分群体仍存在一定频率的敏感基因携带者,特别是部分杜洛克群体,这与采样调研时所了解到的种猪曾引进过台系杜洛克或掺有皮特兰血缘的杜洛克品系有关。根据本检测结果,各采样场杜洛克、长白、大白种群尽量选留 NN 基因型进行纯

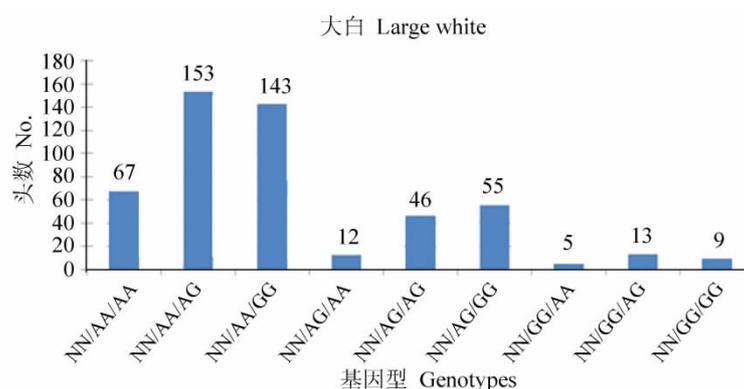


图3 大白猪群 *RYR1*、*IGF2* 与 *MUC13* 的基因型组合分布图

Fig. 3 Distribution of *RYR1*, *IGF2*, *MUC13* genotype combinations in large white pigs

种繁育,可建立氟烷敏感应激阴性猪群。

### 3.4 关于多基因聚合育种

*RYR1*、*IGF2* 与 *MUC13* 的 NN/AA/GG 有利等位基因型组合个体比例在各猪场、各品种差异较大,以杜洛克群的 65.4% 为最高,大部分小于 20%,由此可见,在兼顾表型和性能测定的情况下,需经过多世代选育才能达到将此三个主效位点有利等位基因选育纯合的目的。杜洛克选育较之大白、长白更易于育成纯合品系。

致谢:感谢厦门国寿种猪开发有限公司、福建永诚畜牧有限公司、福建光华百斯特生态农牧发展有限公司、龙岩市龙马畜牧饲料有限公司种猪场、龙岩市万龙原种猪发展有限公司、龙岩市晨兴养殖有限公司等积极协助本实验样品采集;感谢江西农业大学任军博士对基因检测实验的指导和论文的修改。

### 参考文献:

- [1]Andersson L, Georges M. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits [J]. *Nature Review Genetics* 2004 5: 202 – 212.
- [2]Evans G J. Identification of quantitative trait loci for production traits in commercial pig populations [J]. *Genetics* 2003 , 164: 621 – 627.
- [3]Andersson L. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals [J]. *Nat Rev Genet* 2001(2) : 130 – 138.
- [4]Ren J, Tang H, Yan X M et al. A pig-human comparative RH map comprising 20 genes on pig chromosome 13q41 that harbours the ETEC F4ac receptor locus [J]. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 2009 ,126: 30 – 36.
- [5]Van Laere A, Nguyen M, Braunschweig M, et al. A regulatory mutation in *IGF2* causes a major QTL effect on muscle growth in the pig [J]. *Nature* 2003 ,425: 832 – 836.
- [6]Jeon J T. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the *IGF2* locus [J]. *Nature Genet* ,1999 21: 157 – 158.
- [7]Yang G C, Ren J, Guo Y M, et al. Genetic evidence for the origin of an *IGF2* quantitative trait nucleotide in Chinese pigs [J]. *Animal Genetics* ,2006 37: 179 – 180.
- [8]Florini J R, Ewton D Z, McWade F J. IGFs, muscle growth, and myogenesis [J]. *Diabetes Rev* ,1995(3) :73 – 92.
- [9]Amarger V. Comparative sequence analysis of the Insulin – *IGF2* – H19 gene cluster in pigs [J]. *Mamm Genome* 2002 ,13: 388 – 398.
- [10]Fujii J. Detection of the HAL gene in swine: a point mutation in the skeletal muscle ryanodine receptor gene (*RYR1*) [J]. *Animal Genetics* ,1993 21: 56 – 61.
- [11]丁能水,周利华,黄路生,等. 氟烷基因对猪繁殖性能影响的研究 [J]. *江西农业大学学报* ,1999 21(4) : 552 – 554.
- [12]Ojeda A, Huang L S, Ren J et al. Selection in the making: A worldwide survey of haplotypic diversity around a causative mutation in porcine *IGF2* [J]. *Genetics* 2008 ,178: 1639 – 1652.
- [13]Stinckens A, Mathur P, Janssens S et al: Indirect effect of *IGF2* intron3 g. 3072G > A mutation on prolificacy in sows [J]. *Anim Genet* 2010 41: 493 – 498.
- [14]Constancia, M. Deletion of a silencer element in *Igf2* results in loss of imprinting independent of H19 [J]. *Nature Genet* , 2000 26: 203 – 206.
- [15]De Koning D J. Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 97: 7947 – 7950.