

断奶仔猪 TLR4 基因多态性及组织表达分析

刘晓慧^{1, 2} 冯巩俐¹ 张雅君¹ 孙奴奴^{1*}

1. 运城学院生命科学系, 运城;

2. 上海海洋大学, 上海

邮箱: sunnunu@126.com

摘 要: *TLR4* 基因是脂多糖 (LPS) 的主要受体, 连接机体的代谢和免疫调控。本研究采用 PCR-SSCP 技术, 对猪的 *TLR4* 基因外显子 1 和 3 的单核苷酸多态性进行分析, 结果表明: 晋汾白猪和新山西黑猪的 *TLR4* 基因外显子 1 处均存在 4 种基因型 (AA、BB、AB、CC), 在外显子 3 处均存在 3 种基因型 (AA、BB、AB), 卡方检验表明, 两个猪种的基因型分布在 *TLR4* 基因的多态位点差异不显著 ($p>0.05$)。采用 RT-PCR 技术, 检测 *TLR4* 基因在晋汾白猪和新山西黑猪不同组织中的表达水平, 结果显示: *TLR4* 基因在晋汾白猪和新山西黑猪各个组织中都表达。应用 SPSS 19.0 分析 *TLR4* 基因在两个猪种的四种免疫组织 (脾、巨噬细胞、白细胞、淋巴结) 间的表达差异情况。结果表明: *TLR4* 基因的表达在晋汾白猪的脾与白细胞、巨噬细胞、淋巴结间差异非常显著 ($p<0.01$); 在新山西黑猪的淋巴结与白细胞、巨噬细胞、脾间差异非常显著 ($p<0.01$); 在两个猪种的脾脏组织间差异非常显著 ($p<0.01$)。研究成功建立了 *TLR4* 基

因变异信息及其组织表达情况, 为进一步分析猪的 *TLR4* 基因变异与猪的抗病育种提供基础资料。

关键词: *TLR4* 基因; 晋汾白猪; 新山西黑猪; RT-PCR; PCR-SSCP; 多态性; 组织表达

收稿日期: 2019-06-12; 录用日期: 2019-07-05; 发表日期: 2019-07-11

Analysis of TLR4 Gene Polymorphism and Tissue Expression in Weaned Piglets

Liu Xiaohui^{1,2} Feng Gongli¹ Zhang Yajun¹ Sun Nunu^{1*}

1. Department of Life Science, Yuncheng University, Yuncheng;

2. Shanghai Ocean University, Shanghai

Abstract: *TLR4* gene is the main receptor for lipopolysaccharide (LPS), which connects the body's metabolism and immune regulation. In this study, the single nucleotide polymorphisms of exons 1 and 3 of *TLR4* gene in pigs was detected by PCR-SSCP. The results showed that there were 4 genotypes (AA, BB, AB, CC) in exon 1 of *TLR4* gene in Jinfen white pig and new Shanxi black pig, and 3 genotypes (AA, BB, AB) in exon 3. The Chi-square test showed that the genotype distribution was not significantly difference between Jinfen white pig and new Shanxi black pig at the polymorphic sites of *TLR4* gene ($p>0.05$). In addition, the expression level of *TLR4* gene in different tissues was detected by RT-PCR. The results showed that *TLR4* gene was expressed in every tissue of Jinfen white pig and new Shanxi black pig respectively. SPSS 19.0 software was used to further analyze the expression difference of *TLR4* gene between four kinds of immune

tissues (spleen, macrophage, leukocyte and lymph node) of the two pig species. The results showed that the expression of *TLR4* gene was significantly different between the spleen of Jinfen white pig and leukocytes, macrophages, lymph nodes ($p<0.01$). There were extremely significant differences in the expression between the lymph nodes and white blood cells, macrophages, and the spleen of the new Shanxi black pig ($p<0.01$). The expression difference between spleens of Jinfen white pig and new Shanxi black pig was extremely significant ($p<0.01$). The experiment successfully established *TLR4* gene mutation information and tissue expression profile, which would provide basic data for further analysis of *TLR4* gene variation and breeding of disease resistance in pigs.

Key words: *TLR4* gene; Jinfen white pig; New Shanxi black pig; RT-PCR; PCR-SSCP; Polymorphism; Tissue expression

Received: 2019-06-12; Accepted: 2019-07-05; Published: 2019-07-11

Copyright © 2019 by author(s) and SciScan Publishing Limited.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



1 研究背景

Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, *TLR4*) 是 Toll 样受体 (*TLRs*) 家族成员之一, 与髓样分化蛋白 2 (MD-2) 共同构成识别革兰氏阴性菌内毒素 - 脂多糖 (LPS) 的受体复合物 [1], 能够参与识别宿主自身产生的各种损伤相关分子模式 (DAMPs) 和识别病原体的相关分子模式 (PAMPs) [2], 在动物机体免疫应答过程中发挥着重要的作用, 对动物抗病能力具有较大的影响。*TLR4* 基因的多态性已被确定为猪疾病易感性的潜在遗传标记 [3]。Huang 等 [4] 人发现 *TLR4* 基因是沙门氏菌持续脱落仔猪转录反应的主要诱导因子, 而在低壳仔猪中,

没有显著影响。因此, *TLR4* 基因被认为是分析遗传多态性与猪沙门氏菌感染的多种表型模式之间关系的潜在候选。在猪 *TLR2* 和 *TLR4* 的多态性及其与预防肺炎支原体和细菌 LPS 感染的关系的初步研究实验中发现, *TLR4* 基因 1027 位的等位基因 C 有助于猪对革兰氏阴性细菌感染的免疫反应 [5]。通过测定 *TLR1* - *TLR10* 和 MYD88 在猪子宫内膜、概念化组织和绒毛膜尿囊组织中的表达情况时, 发现 *TLR4* 的表达定位于猪子宫内膜和绒毛膜尿囊组织的上皮细胞和基质细胞, 提示 *TLR4* 在子宫内膜和胎盘中表达可能通过在调节粘膜免疫反应中发挥重要作用来支持妊娠的建立和维护 [6]。*TLR4* 基因在维持机体免疫稳态, 抵御病原微生物侵袭等方面发挥重要作用 [7]。因而, 本实验在前人的研究基础上, 对晋汾白猪和新山西黑猪 *TLR4* 基因外显子 1 和 3 进行多态性研究和组织表达分析, 为猪的抗病育种机制提供遗传学依据, 为更系统地研究该基因的功能提供基础, 同时在促进畜牧业发展、保障食品安全等方面具有重要意义。

2 材料与方法

2.1 实验材料

分别采集健康的晋汾白猪 90 头和新山西黑猪 48 头的耳组织和尾组织样本 0.1g (由山西省运城市新龙丰畜牧有限公司提供), 置于装有 75% 乙醇的 1.5 mL 离心管中, 并于 20℃ 保存。再另外采集晋汾白猪和新山西黑猪各三头的免疫系统 (脾、巨噬细胞、白细胞、淋巴结), 呼吸系统 (气管、支气管、肺), 神经系统 (大脑、小脑), 消化系统 (肝、食管、盲肠、结肠、胃、直肠、十二指肠、空肠、回肠), 泌尿生殖系统 (膀胱、肾、子宫、卵巢), 心, 皮肤, 肌肉, 脂肪共 26 种组织, 通过液氮速冻后, 于 80℃ 保存。

Trizol 试剂, 购自北京艾德莱生物科技有限公司; DL 2000 DNA Marker, 购自北京华越洋生物科技有限公司; Vazyme 反转录试剂盒, 购自南京诺维赞生物科技有限公司。

2.2 DNA、RNA 提取及 cDNA 合成

采用酚 / 氯仿 / 异戊醇法抽提耳或尾组织中的 DNA, 用灭菌的双蒸水溶解后,

于 20℃保存备用；利用 Trizol 法提取猪各组织的总 RNA，用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测所提取的 RNA 的完整性，并用超微量紫外分光光度计（ND2000）检测 RNA 的浓度及纯度，RNA 保存于 80℃超低温冰箱；利用反转录试剂盒将所提取的 RNA 反转录成 cDNA，于 20℃保存备用。

2.3 引物设计与合成

利用 Primer 5.0 软件，根据 Gene bank 上公布的猪 *TLR4* 基因和 *ACTB* 基因序列设计引物，再由上海生工生物工程技术有限公司合成，引物信息如表 1 所示：

表 1 引物信息表

Table 1 Primer information

基因	序列	退火温度	长度
<i>TLR4</i> -1	F -TTCTCACTTCCTCTTACC	58℃	277 bp
	R- AGACTCCTACCACATACC		
<i>TLR4</i> -3	F -GGACTTCCCCATTGGACATCTT	58℃	244 bp
	R-AAAGGCACCTGGTTCAATAAAG		
<i>TLR4</i>	F-CGTGCAGGTGGTTCCTAACA	57℃	144 bp
	R-GCTCAGGTCCAGTATCTTGACT		
<i>ACTB</i>	F-GGACTTCGAGCAGGAGATGG	57℃	130 bp
	R-GCACCGTGTTGGCGTAGAGG		

2.4 PCR-SSCP

PCR 反应总体系为 10μL，模板 DNA 为 0.5μL，上下游引物各 0.25μL，2×Taq PCR Master Mix 5μL，双蒸水 4μL。PCR 反应条件：94℃预变性，5min；94℃变性，30s；58℃复性，45s；72℃延伸，1min；35cycles；72℃后延伸，8min。PCR 扩增产物经 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测，400V 预电泳 10min，后 200V 电泳 16h，银染显带，判定基因型，并拍照保存。

2.5 RT-PCR

以三头晋汾白猪（新山西黑猪）同种组织的混合 cDNA 池为模板进行 PCR 扩增；再分别以三头晋汾白猪（新山西黑猪）的四种免疫组织（脾、巨噬细胞、白细胞、淋巴结）cDNA 为模板，进行 PCR 扩增；总反应体系为 10μL，

模板 cDNA 为 0.5 μ L, 上下游引物各 0.25 μ L, 2 \times Taq PCR Masters Mix 5 μ L, 最后加双蒸水 4 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 5min; 94 $^{\circ}$ C 30s; 57 $^{\circ}$ C 30s; 72 $^{\circ}$ C 30s; 35cycles; 72 $^{\circ}$ C 5min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测并拍照保存, 应用 Tanon image 软件来测定各条带的密度值, 进行相对表达量的分析。

2.6 统计分析

利用 Popgene 32 进行基因型分布的群体遗传学分析, 利用 SAS 8.1 对晋汾白猪和新山西黑猪在多态位点的基因型分布进行差异性检验, 采用 SPSS 19.0 对 *TLR4* 基因在各个组织间的表达情况进行方差分析及 Duncan's 多重比较, 对 *TLR4* 基因在晋汾白猪和新山西黑猪相同组织间的表达情况进行独立样本 T 检验。

3 结果与分析

3.1 PCR-SSCP 检测结果

用 12% 的聚丙烯酰胺凝胶检测两种猪的 *TLR4* 基因外显子 1 扩增产物(200V, 16h), 结果如图 1 所示:

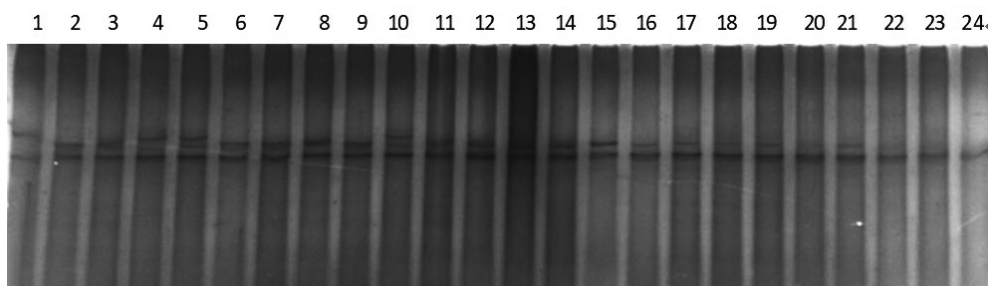


图 1 晋汾白猪和新山西黑猪 PCR-SSCP 结果

Figure 1 PCR-SSCP results of Jinfen white pig and new Shanxi black pig

注: 1、4 为 AA 型; 2、3、6-9、11-19、21 为 BB 型; 5、10 为 AB 型; 20、22-24 为 CC 型。

由图 1 可知, *TLR4* 基因外显子 1 在晋汾白猪和新山西黑猪中均存在多态性, 检测到 3 种等位基因 A、B、C 和 4 种基因型分别定义为 AA、AB、BB、CC。

用 12% 的聚丙烯酰胺凝胶检测两种猪的 *TLR4* 基因外显子 3 扩增产物(200V,

16h)，结果如图 2、图 3 所示：

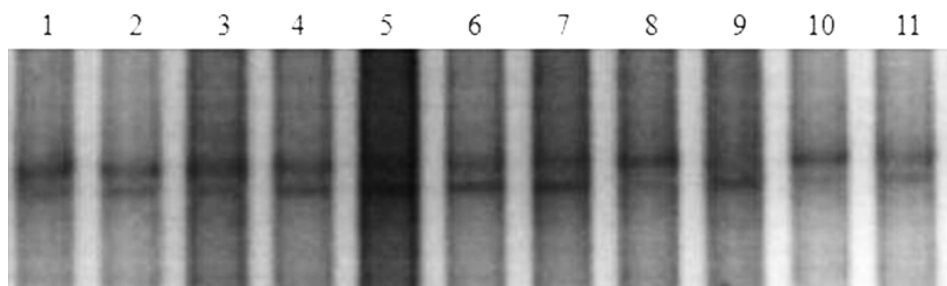


图 2 晋汾白猪 PCR-SSCP 结果

Figure 2 PCR-SSCP results of Jinfen white pig

注：1-7、11 为 AB 型；8、10 为 AA 型；9 为 BB 型。

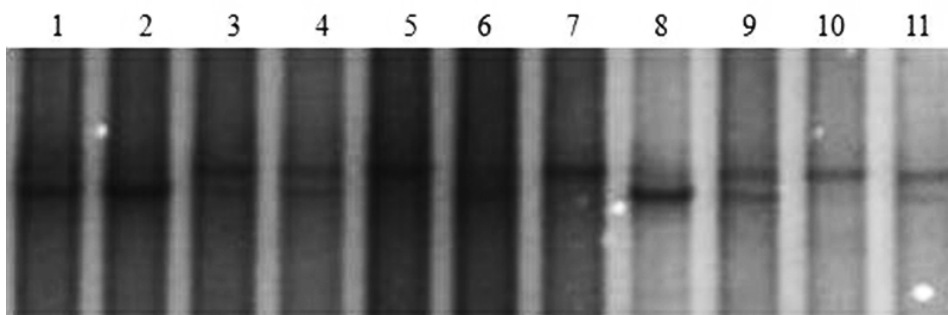


图 3 新山西黑猪 PCR-SSCP 结果

Figure 3 PCR-SSCP results of new Shanxi black pig

注：1、2、8 为 BB 型；3、4、6、9、11 为 AB 型；5、7、10 为 AA 型。

由图 2、图 3 可知，在晋汾白猪和新山西黑猪中均存在 AA、AB、BB 三种基因型，A、B 两种等位基因，说明 *TLR4* 基因外显子 3 在两个猪种中均存在多态性。

3.2 不同猪种 *TLR4* 基因的等位基因和基因型频率分析

利用 Popgene 32 进行基因型分布的群体遗传学分析，由表 2、表 3 可知，晋汾白猪和新山西黑猪 *TLR4* 基因外显子 1 位点处中共检测出 3 种等位基因（A、B、C）和 4 种基因型（AA、AB、BB、CC），其中晋汾白猪和新山西黑猪的优势等位基因均为 B。在 *TLR4* 基因外显子 3 位点处共检测出 2 种等位基因（A、

B) 和 3 种基因型 (AA、AB、BB)，其中晋汾白猪的优势等位基因为 A，新山西黑猪的优势等位基因为 B。 χ^2 适合性检验结果表明，晋汾白猪和新山西黑猪在 *TLR4* 基因外显子 1 和 3 位点处均不符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($p < 0.05$)。

表 2 *TLR4* 基因外显子 1 在两个猪种的基因频率和基因型频率

Table 2 Gene frequency and genotype frequency of *TLR4* exon 1 in two pig breeds

品种	数量	基因型频率				基因频率			χ^2 值	<i>p</i> 值
		AA	AB	BB	CC	A	B	C		
晋汾白猪	90	0.1556	0.0889	0.4222	0.3333	0.2000	0.4667	0.3333	68.7373	0.0000
新山西黑猪	48	0.1333	0.0667	0.4444	0.3556	0.1667	0.4778	0.3556	6.0457	0.0000

表 3 *TLR4* 基因外显子 3 在两个猪种的基因频率和基因型频率

Table 3 Gene frequency and genotype frequency of *TLR4* exon 3 in two pig breeds

品种	数量	基因型频率			基因频率		χ^2 值	<i>p</i> 值
		AA	AB	BB	A	B		
晋汾白猪	42	0.4524	0.2857	0.2619	0.5952	0.4048	7.3921	0.0066
新山西黑猪	38	0.1579	0.2105	0.6316	0.2632	0.7368	8.5482	0.0035

3.3 晋汾白猪和新山西黑猪的纯合度及香农指数

利用 Popgene 32 软件对晋汾白猪和新山西黑猪中 *TLR4* 基因外显子 1 进行遗传特性分析，得出新山西黑猪 (0.9333) 较晋汾白猪纯合度 (0.9111) 高，且新山西黑猪的香农指数 (1.0438) 较晋汾白猪 (1.0192) 高。依据检测的数据可知，新山西黑猪较晋汾白猪更为纯合，更利于抗病育种。对 *TLR4* 基因外显子 3 进行遗传特性分析，可以看出，新山西黑猪的纯合度 (0.7895) 高于晋汾白猪 (0.7143)，遗传稳定性更高，而晋汾白猪的香农指数 (0.6749) 高于新山西黑猪 (0.5763)，其多态性更高。

3.4 基因型差异性分析

利用 SAS 8.1 软件进行晋汾白猪和新山西黑猪在 *TLR4* 基因多态位点的基因型分布的差异性检测，结果显示，在外显子 1 位点两个猪种之间的基因型分布

差异不显著（卡方值为 0.5498， $p=0.4584>0.05$ ）；在外显子 3 位点的基因型分布差异不显著（卡方值为 2.5627， $p=0.1094>0.05$ ）。

3.5 RT-PCR 结果

以反转录得到的 cDNA 池为模板，利用引物 *TLR4*-F，*TLR4*-R 和 *ACTB*-F，*ACTB*-R 分别进行 PCR 扩增后用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测（110 V，30 min），由图 4、图 5 可知，*TLR4* 基因在晋汾白猪与新山西黑猪所选的 26 种组织与细胞中都表达。

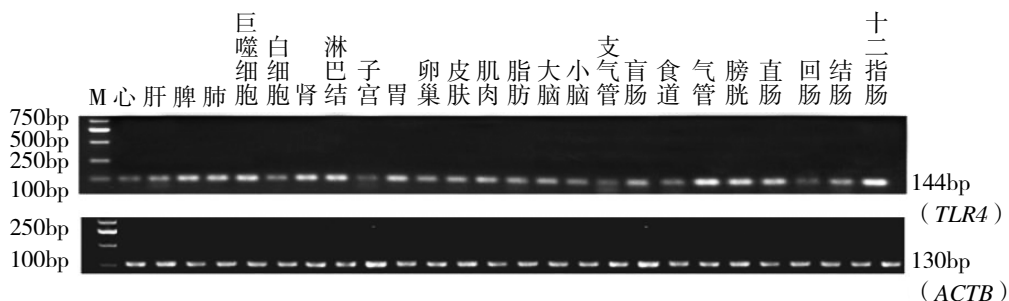


图 4 晋汾白猪 RT-PCR 检测结果

Figure 4 RT-PCR results of Jinfen white pig

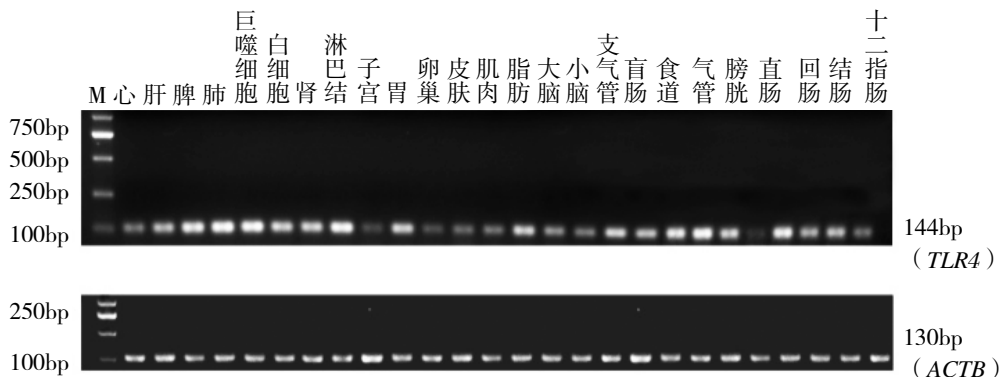


图 5 新山西黑猪 RT-PCR 检测结果

Figure 5 RT-PCR results of new Shanxi black pig

3.6 方差分析及 Duncan's 多重比较结果

应用 SPSS 19.0 软件分析 *TLR4* 基因在晋汾白猪和新山西黑猪中四种免疫组

织（脾、巨噬细胞、白细胞、淋巴结）间的表达差异情况。

表 4 晋汾白猪方差分析及多重比较结果

Table 4 Variance analysis and multiple comparison results of Jinfen white pig

组织	平均值	标准差	<i>F</i> 值	<i>p</i> 值	Duncan (D) 比较	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
脾	1.0744	0.1174	21.2022	0.0001	a	A
白细胞	0.6911	0.1537			b	B
巨噬细胞	0.5412	0.0909			bc	BC
淋巴结	0.3708	0.0652			c	C

表 5 新山西黑猪方差分析及多重比较结果

Table 5 Variance analysis and multiple comparison results of new Shanxi black pig

组织	平均值	标准差	<i>F</i> 值	<i>p</i> 值	Duncan (D) 比较	
					$\alpha=0.05$	$\alpha=0.01$
巨噬细胞	0.5706	0.0713	16.2211	0.0013	a	A
白细胞	0.5686	0.0448			a	A
脾	0.4742	0.0315			b	A
淋巴结	0.3325	0.0393			c	B

注：不同大写字母表示差异极显著（ $p<0.01$ ），不同小写字母表示差异显著（ $p<0.05$ ），相同大写字母或相同小写字母表示差异不显著（ $p>0.05$ ）。

由表 4、5 可知，*TLR4* 基因在晋汾白猪的脾与白细胞、巨噬细胞、淋巴结间，白细胞与淋巴结间呈极显著差异（ $p<0.01$ ）；在新山西黑猪的淋巴结与白细胞、巨噬细胞、脾间呈极显著差异（ $p<0.01$ ），脾与白细胞、巨噬细胞间呈显著差异（ $0.01<p<0.05$ ）。

3.7 独立样本 T 检验结果

采用 SPSS 19.0 软件对 *TLR4* 基因在晋汾白猪和新山西黑猪相同免疫组织间的表达情况进行独立样本 T 检验。

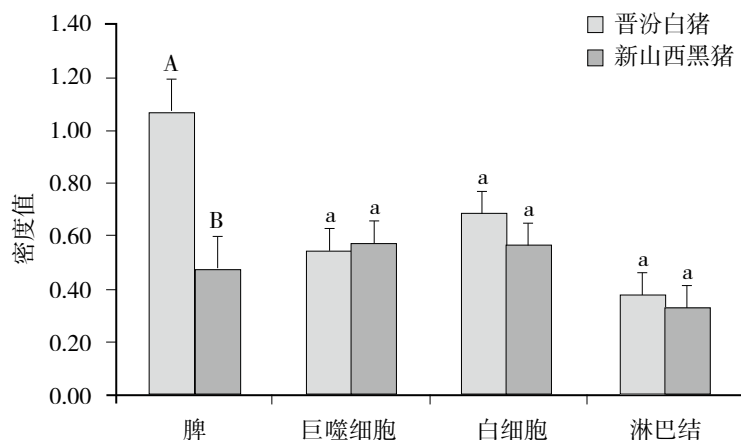


图 6 晋汾白猪与新山西黑猪独立样本 T 检验结果

Figure 6 T-test results of Jinfen white pig and new Shanxi black pig

注：不同大写字母表示差异极显著 ($p < 0.01$)，相同小写字母表示差异不显著 ($p > 0.05$)。

由图 6 可知，TLR4 基因在晋汾白猪与新山西黑猪的脾组织间的表达差异极显著 ($T=8.611$, $p=0.00102 < 0.01$)，在巨噬细胞 ($T=0.397$, $p=0.68273 > 0.05$)、白细胞 ($T=1.324$, $p=0.25578 > 0.05$)、淋巴结 ($T=0.824$, $p=0.43241 > 0.05$) 组织间的表达差异不显著。

4 讨论与结论

我国猪肉产量和消费量位列全球第一，近年来人们对于猪肉产品的需求量逐年增加，但是猪病频发成为当前规模化养殖所面临的最严峻的问题，给养猪产业带来了严重的经济损失。因此找到抵抗疾病的方法与增强不同猪种的自身免疫能力越来越重要，开展抗病育种工作对于从遗传本质上提高猪对疾病的抵抗力具有十分重大的意义。TLR4 基因在维持机体免疫稳态，抵御病原微生物侵袭等方面发挥重要作用。通过 RT-PCR 技术探究 TLR4 基因在两个猪种的表达差异情况，结果可知其在两种猪的各个组织中都表达。对比 Liu 等 [8] 在探讨美山地区断奶仔猪 TLR4 信号转导与大肠杆菌 F18 耐药的关系实验结果，可知 TLR4 信号通路基因在所有免疫器官和肠道组织中均有表达，脾脏和淋巴结的表达普遍较高。表明 TLR4 基因在免疫调控中发挥重要作用。另外，两个猪种在

同种组织上的表达有差异, 同种猪在不同组织中的表达也有区别, 依据不同组织中基因的不同表达模式推测, *TLR4* 基因在不同组织中的差异表达或许与断奶仔猪各组织细胞对病原的识别和抵抗能力不同有关, 在同一猪种的不同组织间表达量呈现显著性差异, 可能是与不同组织细胞的功能相适应。Yang 等 [9] 研究发现, *TLR4* 基因在肥胖猪的皮下脂肪组织中的表达量比瘦猪的要高, 表明 *TLR4* 介导的炎症反应与猪的肥胖相关。在本次实验中选用的样本猪日龄较小, 体重正常, 所以实验结果显示 *TLR4* 基因在脂肪组织中的表达量较低。因此, 也可以为 *TLR4* 基因介导的炎症反应与肥胖的关系提供一个佐证。但是 *TLR4* 基因具有复杂的生物学功能, 其实际作用机制还需要进行更多的研究。

另外, 通过对 *TLR4* 基因多态性的检测可以为猪疾病易感性提供潜在遗传标记。刘璐等 [10] 采用 PCR-SSCP 方法, 检测了包括亚洲野猪、3 个引进猪种和 10 个中国地方猪种在内的 893 个样本 *TLR4* 基因外显子 1 的遗传多态性, 共检测到 3 个等位基因, 6 种基因型。其中杜洛克猪中有 6 种 (AA、BB、CC、AB、AC、BC), 苏太猪中有 3 种 (BB、CC、BC), 长白猪和约克夏猪中有 2 种 (CC、BC), 而野猪及 10 个中国地方猪种只检测到 1 种 (CC), 说明其 *TLR4* 基因外显子 1 高度保守; 另外中国地方猪种和引进猪种在 *TLR4* 基因外显子 1 的多态性差异极显著 ($p < 0.01$)。在本实验中, 晋汾白猪和新山西黑猪的 *TLR4* 基因外显子 1 中均检测到 3 种等位基因 (A、B、C) 和 4 种基因型 (AA、AB、BB、CC), 两个猪种的纯合度较高, 杂合度较低, 且两个猪种在 *TLR4* 基因外显子 1 处具有高度保守性, 多态性较低, 同时经过卡方检验, 表明两个猪种在 *TLR4* 基因多态位点的基因型差异不显著 ($p > 0.05$)。周波 [11] 等也利用 PCR-SSCP 方法, 对梅山猪、新淮猪、大白猪、长白猪和杜洛克猪 5 个猪种共计 203 头猪的 *TLR4* 基因外显子 3 位点进行了多态性分析, 结果显示, 各猪种的纯合度都较高, 特别是 BB 型基因频率均大于 90%, 但均未检测出 AA 型。而在本实验中, 晋汾白猪 AA 型基因频率 (0.4524) 大于 BB 型 (0.2619); 新山西黑猪 AA 型基因频率 (0.1579) 小于 BB 型 (0.6316), 造成这种差异可能的原因是人工选择力度过大, 导致其多态性较其他选择的猪种低。另外, 晋汾白猪和新山西黑猪在 *TLR4* 基因的第 3 外显子处均不符合 Hardy-Weinberg ($p < 0.05$) 平衡, 出现这种结果的原因

可能是选取样本时,选择了全同胞或半同胞猪,导致其基因同源性较高,另外人工选择和所选样本较小也可能导致这种结果。对比可知,晋汾白猪和新山西黑猪比梅山猪、新淮猪、大白猪、长白猪和杜洛克猪的香农指数高,多态性更丰富,而晋汾白猪的多态性又高于新山西黑猪,表明晋汾白猪的选择潜力更大。但本实验选取样本较小,今后还需要进一步扩大晋汾白猪和新山西黑猪的检测群体,从而深入分析 *TLR4* 基因变异对晋汾白猪和新山西黑猪抗病育种的影响。

本实验通过在 DNA 水平和 mRNA 水平上对晋汾白猪和新山西黑猪 *TLR4* 基因的研究,初步了解了 *TLR4* 基因外显子 1 和 3 的单核苷酸多态性,确定了其基因型在两个猪种中的分布状况,并检测了 *TLR4* 基因在晋汾白猪和新山西黑猪同种猪的不同组织及不同猪的相同组织中的表达差异情况,为以后对晋汾白猪和新山西黑猪的抗病育种和分子选育工作提供一定的理论依据以及对该基因的生物学功能提供论证。

基金项目

山西省重点学科建设经费资助(FSKSC);大学生创新创业训练项目(DC2018137)。

参考文献

- [1] Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, et al. Pillars Article: Cutting Edge: Toll-Like Receptor 4 (*TLR4*)-Deficient Mice Are Hyporesponsive to Lipopolysaccharide: Evidence for *TLR4* as the Lps Gene Product [J]. *J. Immunol*, 2016, 197 (7): 2563-6.
- [2] Kumar V. Toll-like receptors in the pathogenesis of neuroinflammation [J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 332: 16-30.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.03.012>
- [3] Kich J D, Uthe J J, Benavides M V, et al. *TLR4* single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with Salmonella shedding in pigs [J]. *J Appl Genet*, 2014, 55 (2): 267-71. <https://doi.org/10.1007/s13353-014-0199-8>

- [4] Huang T, Uthe J J, Bearson S M D, et al. Distinct peripheral blood RNA responses to Salmonella in pigs differing in Salmonella shedding levels: intersection in IFN γ , TLR and miRNA pathways[J]. PloS ONE, 2011, 6(12): e28786. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028768>
- [5] Fang X, Liu X, Meng C, et al. Breed-linked polymorphisms of porcine toll-like receptor 2 (*TLR2*) and *TLR4* and the primary investigation on their relationship with prevention against *Mycoplasma pneumoniae* and bacterial LPS challenge[J]. Immunogenetics, 2013, 65 (11) : 829–34. <https://doi.org/10.1007/s00251-013-0727-4>
- [6] Yoo I, Han J, Lee S, et al. Analysis of stage-specific expression of the toll-like receptor family in the porcine endometrium throughout the estrous cycle and pregnancy [J]. Theriogenology, 2019, 125: 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.11.003>
- [7] Shi H, Huang X, Yan Z, et al. Effect of *Clostridium perfringens* type C on TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in piglet small intestines [J]. Microb Pathog, 2019, 135: 103567. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103567>
- [8] Liu Y, Gan L N, Qin W Y, et al. Differential expression of Toll-like receptor 4 signaling pathway genes in *Escherichia coli* F18-resistant and -sensitive Meishan piglets [J]. Pol J Vet Sci, 2016, 19 (2) : 303–308. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2016-0037>
- [9] Yang X F, Jiang Z Y, Tian Z M, et al. Inflammation-related oxidative stress in white adipose tissues of an inbred obese pig [J]. Ann Anim Sci, 2017, 17 (2) : 3–8. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0054>
- [10] 刘璐. *TLR4* 基因对断奶仔猪 F18 大肠杆菌抗性调节机制的初步分析 [D]. 扬州大学, 2013.
- [11] 周波, 刘传武, 虞德兵, 等. 用 PCR-SSCP 方法检测猪 Toll 样受体 4(*TLR4*) 基因外显子 3 的 SNP [J]. 畜牧与兽医, 2008 (6) : 26–30.