



融水小型猪的实验动物化系列研究概述

施赫赫^{1,2}, 陈 淦², 刘 科¹, 刘运忠³, 王绪敏⁴, 高 翔⁵,
贺争鸣⁶, 余细勇⁷, 赖良学⁸, 唐小江¹

(1. 广东省医学实验动物中心, 广东 佛山 528248; 2. 广东贝格生物科技有限公司, 广东 佛山 528100;
3. 广州医药工业研究总院, 广州 510240; 4. 中国科学院北京基因研究所, 北京 100101;
5. 南京大学模式动物研究所, 南京 210061; 6. 中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所, 北京 100050;
7. 广东省医学科学院, 广州 510060; 8. 中国科学院广州生物医药与健康研究院, 广州 510530)

【摘要】 融水小型猪的种源来自广西融水县, 2012 年被引到广东繁育并测定了基础数据, 包括种质特性、繁殖性能、生长曲线、血液学指标、血生化指标、脏器系数、染色体分析。参照国家和地方有关实验动物标准, 初步建立了融水小型猪微生物与寄生虫、环境与设施、饲料、病理学、遗传学等质量控制标准。融水小型猪能适应当地气候, 繁殖良好, 自然受孕率为 88.3%, 妊娠期平均 112 d, 初产平均胎产仔 6.1 头, 经产平均产仔 7.9 头。融水小型猪体型小, 雌雄成年体重(6 月龄)分别为 17.21 ± 5.20 kg 和 16.35 ± 5.23 kg, 性情温顺, 线粒体 DNA 分析表明融水小型猪比兰屿猪更为古老。通过标准化的饲养管理与质量控制, 具有培育成实验用小型猪的基本条件。

【关键词】 融水小型猪; 种质特性; 实验动物化; 质量控制

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 03-0086-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.003.016

Brief report of series study on Rongshui miniature pig as laboratory animal

SHI He-he^{1,2}, CHEN Gan², LIU Ke¹, LIU Yun-zhong³, WANG Xu-min⁴,
GAO Xiang⁵, HE Zheng-ming⁶, YU Xi-yong⁷, LAI Liang-xue⁸, TANG Xiao-jiang¹

(1. Guangdong Medical Laboratory Animal Center, Guangdong Foshan, 528248, China;
2. Beige BioTec Co., Ltd., Guangdong Foshan 528100, China; 3. Guangzhou Pharmaceutical Industry Research Institute, Guangzhou, 510240, China; 4. Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;
5. Model Animal Research Center of Nanjing University, Nanjing 210061, China; 6. Chinese Experimental Animal Resources Research Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;
7. Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510060, China;
8. Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510530, China)

【Abstract】 The provenances of Rongshui miniature pigs (RMPs) were purchased from Rongshui, Guangxi, in 2012. 130 RMPs were transported to Sanshui, Guangdong, China, which were breed according to the laboratory animal standards. 83 RMPs were selected randomly from the first filial generations (F1). The basic data were collected including breed characteristics, reproductive performance, grow curve, hematology, biochemical markers of serum and urine, organ coefficient, Chromosome analysis. According to the national and local standards, the quality control standards of RMP were

【基金项目】 国家重大研究计划项目(2011CB944101); 国家自然科学基金重点项目(81120108003; 81330007)。

【作者简介】 施赫赫(1985-), 男, 硕士, 研究方向: 实验用小型猪。

【通讯作者】 唐小江(1967-), 男, 博士, 研究方向: 实验动物与疾病动物模型、毒理学。E-mail: river-t@126.com。

set up including microbiological, parasitic, environment and facilities, fodder, pathology, genetic. The results showed that RMPs adapt to the climate of Guangdong. The natural mating and conceive rate was 88.3% with the pregnancy of 112 days. The average number of firstborn and still-born was 6.1 and 7.9 respectively. RMP was small body size with the adult body weight of 17.21 ± 5.20 kg and 16.35 ± 5.23 kg in female and male respectively. RMP was very tame. The mitochondrial genome analysis suggested RMP belonged a typical miniature pig breed in China, which is ancient than Lanyu pig. RMP could be breed as a new kind of laboratory animal.

【Key words】 Rongshui miniature pig(RMP); Characteristic; Experimental animalization; Quality control

我国具有丰富的小型猪资源,数十家机构对近 10 种小型猪开展了实验动物化研究,培育出五指山小型猪、版纳微型猪、贵州小型猪、巴马小型猪、中国农大小型猪、西藏小型猪、蕨麻小型猪等实验用小型猪^[1-7],但我国至今尚未建立可稳定供应的实验动物用小型猪品种。与国外知名的小型猪如哥廷根小型猪等^[8]相比,我国实验用小型猪的标准化研究和繁育、规模化生产与供应都存在巨大的差距,难以满足日益增长的动物实验需求。与国外采取杂交选育的培育方法不同,我国实验用小型猪大多采取自然形成的封闭群选育,因此,良好的种源成为实验动物化的基础,而“体型小、体重轻、性情温驯、表型一致”是关键。本课题组在广西融水县苗寨发现了一种体型小、性情温驯的小黑猪。在广东贝格生物科技有限公司和广东省医学实验动物中心的支持下,我们于 2012 年 5 月将该品种引种到广东佛山三水乐平镇的小型猪基地进行实验动物化研究,现将系列研究情况作一概述。

1 融水小型猪的种源

融水小型猪的种源来自广西壮族自治区融水县杆洞乡百秀村苗寨。该猪在当地被称为“香猪”、“大苗山香猪”、“苗猪”、“融水黑香猪”等。该苗寨地处崇山峻岭之中,交通十分不便,因此该猪是近亲繁殖,基本没有引入外来基因,经过数千年繁育,遗传性状稳定,属于自然形成的典型封闭群,目前尚无该猪种质资源特性的研究报道。

2 保种区选址与硬件设施建设

融水小型猪研究基地(广东省医学实验动物中心小型猪基地)位于佛山市三水区乐平镇所辖林地,占地约 200 亩,四面树林环绕,自成天然防疫屏障,空气质量良好,远离居民点。地理位置满足卫生防疫安全、生产物资的运输需要。基地设生产区、行政办公区与后勤生活区三个功能区。生产区与行政办公区、后勤生活区隔离分开,处于下风向,

生产区内设置种猪配种怀孕舍、分娩舍、保育舍,采用高床养殖(彩插 12 图 1)。

猪舍设计为砖墙全封闭式,隔热瓦封顶,安装抽风机;冬季保暖采用保温灯、保温垫板;门窗采用铝合金,加装防蚊纱窗、纱门和挡鼠板;排污采用环保处理,设计为雨水与粪尿污水分流;每一栋猪舍配备一个三级化粪池或沼气池,将粪尿进行无害化处理和资源化利用。

3 融水小型猪种质特性

3.1 体型外貌

融水小型猪体型外貌见彩插 12 图 2。该猪体躯矮小,被毛全黑,少量有唇白和肢端白。头较大,面平直,额面有纵行皱纹,耳较小薄,略向前伸,稍下垂或两侧平伸。颈部短而细,背腰平直或微凹,腹较大下垂但不拖地,尾巴细长。母猪乳头多为 5~6 对,少量能达到 7 对。后躯丰满,四肢短细紧凑,肢端常见为卧系。

3.2 生长性能

融水小型猪生长缓慢,F1 代雌雄仔猪 6 月龄、12 月龄平均体重分别为 17.21 ± 5.20 Kg 和 16.35 ± 5.23 Kg, 26.97 ± 6.49 Kg 和 26.53 ± 5.65 kg,详见另文报道。3 年龄的空怀母猪平均体重 44.60 kg。

3.3 繁殖性能

母猪发情症状明显,一个情期的自然交配受孕率较高,约 88.3%;引进母猪配种后妊娠期平均 112 d,初产平均胎产仔 6.1 头,活仔数 5.9 头;经产平均产仔 7.9 头,活仔数 5.9 头。仔猪 45~60 d 龄断奶。

4 实验动物化系列研究

4.1 常规指标的测定

按照《实验动物哺乳类实验动物的遗传质量控制》的要求^[9],开展了实验动物化系列研究,包括 4 月龄和 12 月龄融水小型猪的血液学、血清生化指标分析,对 F1 代从初生至 12 月龄进行连续跟踪测量

体重及体尺值,测定指标包括:体重、体长、体高、胸围、管围、腿臀围、胸深、胸宽、嘴裂长度^[10]。采用淋巴细胞培养法进行染色体分析,测得常染色体 18 对,性染色体 1 对。测定了脏器重量及脏器系数、尿液生化及其他基础数据。以上研究详见另文报道。

4.2 质量控制研究

参考实验用小型猪北京地方标准^[11],对保种群进行质量控制研究,包括微生物学、寄生虫学、病理学、配合饲料、环境设施和遗传质量控制六方面。

4.2.1 微生物学:随机选择 23 头融水小型猪,经常规免疫程序免疫后的,检测猪瘟抗体、蓝耳抗体,结果均呈阳性反应,说明猪群获得免疫性保护。随机选择 61 头融水小型猪进行圆环病毒抗体检测,结果均为阴性,说明该猪群没有受圆环病毒感染。

4.2.2 寄生虫学:经过定期(3 个月一次)给予体内外驱虫药后,进行体表寄生虫检测,未发现体外寄生虫,弓形虫未检测。

4.2.3 饲料:生长料,哺乳料及维持料与饲料厂家合作,根据北京地方标准制作,开食料采用厂家提供的教槽料。

4.2.4 组织病理学:对 4 头健康的融水小型猪(4 月龄,雌雄各半)进行解剖,做组织病理切片,作为融水小型猪在疾病诊断时的正常对照,详见另文报道。

4.2.5 环境及设施:饲养环境为普通级,猪舍为全封闭建造,门窗加装防蚊纱窗,防鼠挡板。湿帘通风系统和局部保温灯控制舍内温湿度,夏天温度最高控制在 28℃~30℃,冬天温度最低控制在 16℃~20℃,新生仔猪局部小环境通过使用保温电热板和保温箱,温度 32℃~35℃,减少仔猪的寒冷应激。

4.2.6 遗传质量控制:对融水小型猪线粒体 DNA 测定分析,并与国内外多个猪种比较发现,融水小型猪比已知的兰屿猪更为古老,详见另文报道。另外,融水小型猪的全基因组测序工作已经完成,目前正在进行分析工作,将进一步阐明其与贵州香猪等其他猪种遗传关系。

5 讨论

小型猪是一种理想的实验动物,在解剖学、生理学、疾病发生机理等方面与人极为相似,在生命科学研究领域中具有重要的实际应用价值。未来发展中可以成为在基因组学、高密度生物学、转基因技术、体外毒理学和相关技术方面有发展前景的平

台^[12]。美国明尼苏达大学于 1949 年开始了小型猪方面的研究,其后德国、日本、法国也先后培育出小型猪品系。美国培育的小型猪品系有明尼苏达-荷曼系(Minnesota-Hormel)、皮特曼-摩尔系(Pitman-Moore)、亨浮额德系(Hanford)、尤卡坦(Yucatan)种;德国培育的哥廷根(Gottingen)小型猪;日本培育的小型猪品系有阿米尼种(Oh mini)、克劳恩咪尼系(Clawn mini)和、会津系(Huei-Jin)和微型迷你猪(Microminipig),法国培育的小型猪品系有科西嘉系(Corsica),并广泛应用于生物医学研究^[13-20]。目前哥廷根小型猪是国际公认的最佳医用模式动物之一,获得全世界医药管理机构认可。目前,哥廷根小型猪种群保种在三个国家,形成了 3 个丹麦种,1 个美国种和 1 个德国种^[21]。

我国小型猪的培育工作起步晚,80 年代初才开始对小型猪资源进行调查和实验动物化研究,与国外先进国家相比落后了几十年。但我国具有丰富而又独特的小型猪资源,经过选育及实验动物化研究,可适应生命科学研究多种需求,为生命科学研究提供完善及丰富的动物模型。北京农业大学畜牧系教研室与实验动物所从 1985 年开始研究选育我国自己的小型猪^[22]。后来中国农业科学院引入五指山猪,云南农业大学从西双版纳引入版纳微型猪,贵阳中医学院从贵州黔东南苗族侗族自治州引入香猪,广西农业大学从巴马瑶族自治县引入巴马香猪^[23]。南方医科大学从青藏高原地区引入藏猪^[24]。

为了便于比较,我们绘制了国内外主要 9 种小型猪^[7,25-28]的体重变化曲线(封 3 图 3)。融水小型猪的体重较轻,雌雄 12 月龄的体重分别仅为 26.97 kg 和 26.53 kg,与哥廷根小型猪相当,体现了该品种“小”的特点。在繁殖性能方面,贝格猪初产仔数 6.0 头,活仔数 5.8 头,经产平均产仔 7.9 头,活仔数 5.9 头,远高于广州地区西藏小型猪初产仔数 2.3 头,活仔 2.2 头,经产 5.7 头,活仔 4.9 头^[29],高于蕨麻小型猪产仔数 5.97 头,活仔数 5.59 头^[30];稍低于五指山小型猪初产仔数 6.67 头,活仔数 6.56 头^[31];接近国外杂交繁育的 Gottingen 小型猪平均产仔数 6.5 头^[8],说明融水小型猪繁育性能良好,可稳定繁育、保种。

国外小型猪品种都是改良猪与未改良地方品种或野猪杂交育成的,而我国小型猪均产于偏远山区,无外来猪种与之杂交,当地人习惯于将猪进行

采用亲子交配、兄妹交配等高度近交的自繁自养方式,外来猪种极难与之杂交,由此形成了封闭的小型猪群体,具有遗传、表型更加稳定、性成熟早、繁殖性能强、生长慢、体型矮小、性成熟早、抗逆性强等生物学特性,是理想的生物学研究模型^[32]。融水小型猪具有上述特点,尤其是性情温顺的特点,在体重较轻时不仅可以抱起保定,成年后也容易固定。可以预测,如果对融水小型猪进行定向选育,可能得到体型更小、性格温驯的优质实验用小型猪。

参考文献:

- [1] 张贺,王承利,王洋,等. 小型猪动物模型在医学领域中的应用[J]. 中国畜牧兽医,2012,39(7):263-266.
- [2] 庞琳琳,张会永,杨关林. 巴马小型猪在医学研究中的应用进展[J]. 中国实验动物学报,2014,22(1):94-98.
- [3] 胡鹏飞,李向臣,关伟军. 五指山小型猪诱导多能干细胞的前景分析[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(7):174-177.
- [4] 王淑燕,霍金龙,潘伟荣,等. 版纳微型猪近交系 GHR 基因克隆及生物信息学分析[J]. 中国实验动物学报,2014,22(1):48-56.
- [5] 吴曙光,邓红勇,王明镇,等. 贵州小型猪早期生长曲线拟合初步分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2013,8(上):63-65.
- [6] 曾昭智,江涛,张锦红,等. 西藏小型猪实验动物化初期生长繁殖性能研究[J]. 黑龙江畜牧兽医科技版,2011,2月(上):48-49.
- [7] 闵凡贵,潘金春,王希龙,等. 藏麻小型猪在广东地区的适应性观察[J]. 家畜生态学报,2014,35(7):72-77.
- [8] Peter A. McAnulty, Anthony D. Dayan, Niels-Christian Ganderup, *et al.* The MINIPIG in BIOMEDICAL RESEARCH [M]. Boca Raton London New York, CRC Press, 2011: 7.
- [9] 全国实验动物标准化委员会. 实验动物哺乳类实验动物的遗传质量控制 GB14923-2010[S],北京,2011.
- [10] 国家标准总局. GB 3038—82 种猪档案记录[S]. 1982-10-01.
- [11] 北京市质量技术监督局. 实验用小型猪:微生物学等级及监测 DB11T 828.1-2011[S];寄生虫学等级及监测 DB11T 828.2-2011[S];遗传质量控制 DB11T 828.3-2011[S];病理学诊断规范 DB11T 828.4-2011[S];配合饲料 DB11T 828.5-2011[S];环境及设施 DB11T828.6-2011[S],2011-11-10 发布,2012-03-01 实施.
- [12] Roy Forster, Philippe Ancian, Merete Fredholm, *et al.* The minipig as a platform for new technologies in toxicology [J]. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 2010,62: 227-235.
- [13] 冯书堂. 我国小型猪资源实验化培育及开发利用[J]. 实验动物科学,2007,24(6):111-118.
- [14] <http://snsfarms.com/>.
- [15] <http://www.criver.com/about-us/news-events/featured-stories/2014/minipig-strains-and-the-emergence-of-the-göttingen>.
- [16] Jan R Linkenhoker, Tanya H Burkholder, CG Garry Linton, *et al.* Effective and Safe Anesthesia for Yorkshire and Yucatan Swine with and without Cardiovascular Injury and Intervention [J]. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science, 2010, 49(3): 344-351.
- [17] Chak-Sum Ho, Gregory W. Martens, Max S. Amoss Jr, *et al.* Swine leukocyte antigen (SLA) diversity in Sinclair and Hanford swine [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2010, 34: 250-257.
- [18] Naoki Kaneko, Katuhiko Itoh, Atsushi Sugiyama, *et al.* Microminipig, a Non-rodent Experimental Animal Optimized for Life Science Research: Preface [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2011, 115: 112-114.
- [19] Hiroaki Kawaguchi, Noriaki Miyoshi, Naoki Miura, *et al.* Microminipig, a Non-rodent Experimental Animal Optimized for Life Science Research: Novel Atherosclerosis Model Induced by High Fat and Cholesterol Diet [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2011, 115: 115-121.
- [20] Atsushi Sugiyama, Yuji Nakamura, Yasuki Akie, *et al.* Microminipig, a Non-rodent Experimental Animal Optimized for Life Science Research: In Vivo Proarrhythmia Models of Drug-Induced Long QT Syndrome: Development of Chronic Atrioventricular Block Model of Microminipig [J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2011, 115: 122-126.
- [21] Henner Simianer, Friederike Köhn. Genetic management of the Göttingen Minipig population [J]. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2010, 62: 221-226.
- [22] 李俊佑. 小型猪 [J]. 延边农学院学报, 1990, 1: 91-93.
- [23] 魏泓. 我国小型猪研究现状 [J]. 中国实验动物学, 1997, 7(4): 252-255.
- [24] 顾为望, 曾昭智, 刘运忠, 等. F1 代西藏小型猪早期生长发育特点 [J], 中国实验动物学报, 2006, 14(4): 307-310.
- [25] http://www.lasdr.cn/pages/resdata_dataview.jsp?id=10059100.
- [26] http://www.lasdr.cn/pages/resdata_dataview.jsp?id=10054195.
- [27] <http://www.sinclairresearch.com>.
- [28] <http://minipigs.dk>.
- [29] 龚宝勇, 刘运忠, 曾昭智, 等. 广州地区西藏小型猪的繁殖行为学表现 [J]. 中国实验动物学报, 2006, 41(4): 315-317.
- [30] 闵凡贵, 潘金春, 王希龙, 等. 藏麻小型猪在广东地区的适应性观察 [J]. 家畜生态学报, 2014, 35(7): 72-77.
- [31] 闵凡贵, 潘金春, 袁文, 等. 封闭群五指山小型猪主要繁殖性状的多重回归与通径分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(12): 145-148.
- [32] 王桂花, 尹晓敏, 赵德明, 等. 国内外小型猪资源概况. 中国比较医学杂志, 2009, 19(2): 71-73.

[修回日期]2015-03-04