



# 华南地方猪肉品质及抗蓝耳病机制解析和种质资源创制

莫德林, 何祖勇, 彭欧阳, 童献, 王小宇, 刘小红, 曹永长\*, 陈瑶生\*

中山大学生命科学学院, 广州 510275

\* 联系人, E-mail: [caoych@mail.sysu.edu.cn](mailto:caoych@mail.sysu.edu.cn); [chyaosh@mail.sysu.edu.cn](mailto:chyaosh@mail.sysu.edu.cn)

收稿日期: 2024-07-05; 接受日期: 2024-07-24; 网络版发表日期: 2024-09-06

广东省乡村振兴战略专项资金种业振兴行动项目(批准号: 2022-440000-4301030202-9510, 2022-440000-43010101-9501)和中国农业农村部现代农业产业技术体系项目(批准号: CARS-35)资助

**摘要** 肉质与抗病力是猪的两个重要经济性状, 解析其具体机制并创新种质是改良生猪的未来趋势. 大量研究表明, 肌内脂肪含量是影响猪肉品质最重要的因素之一. 通过单细胞测序及成脂基因功能鉴定, 中山大学育种团队成功解析了中国地方猪高肌内脂肪含量的成因, 并通过单碱基突变创制出高瘦肉量、高肌内脂肪含量的基因编辑猪. 猪蓝耳病曾经给我国生猪养殖业造成巨大损失, 直到现在仍然是生猪养殖业两大重要传染病之一. 本研究团队在蓝耳病病毒入侵、扩散、复制到释放各环节均有重要发现, 并利用基因编辑技术将受体蛋白CD163中仅介导病毒脱壳的41个氨基酸精准删除, 不仅获得了抗蓝耳病病毒的基因编辑猪, 还最大限度地保留了CD163的生理功能. 以上研究成果为猪的肉质改良以及抗病育种提供重要理论基础与新种质资源, 并将推动我国生猪育种与养殖业快速发展.

**关键词** 猪, 种业, 肉质, 基因编辑, 蓝耳病

猪肉是我国居民最重要的动物蛋白来源, 如何在确保生猪健康养殖基础上实现产肉量与肉品质的平衡育种改良, 充分挖掘我国地方猪优秀种质资源与高效利用引进猪种有机结合, 是我国生猪种业高质量发展的重要途径. 我国是世界上最早驯养猪的国家之一, 各地区劳动人民结合当地的自然条件和风俗习惯培育出了众多具有地方特色的猪种, 使我国成为世界上猪种资源最为丰富的国家. 我国地方猪种普遍具有肉质细嫩、肌内脂肪含量高等优良肉质特性, 但也存在生长缓慢、瘦肉率和饲料转化率低等缺点. 而西方瘦肉

型猪具有生长速度快、瘦肉和饲料转化率高等优点, 正好可以弥补我国地方猪种的缺点. 因此, 利用西方瘦肉型猪种进行杂交可以对我国地方猪种的生长速度和瘦肉率等性状进行遗传改良, 但杂交猪种的肉质性能相对纯种地方猪都有所下降. 近年来, 随着对猪重要经济性状遗传基础的解析, 利用基因编辑技术对控制性状的关键基因进行精确修饰, 可实现目标性状的精准遗传改良, 并可避免对其他重要经济性状造成不利影响, 同时还可以省去传统杂交育种因世代间隔所花费的漫长等待时间, 因此可以在短时期内培育出符合

引用格式: 莫德林, 何祖勇, 彭欧阳, 等. 华南地方猪肉品质及抗蓝耳病机制解析和种质资源创制. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 1641–1650  
Mo D L, He Z Y, Peng O Y, et al. Research progress in pork quality and resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome in south China and creation of germplasm resources (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 1641–1650, doi: [10.1360/SSV-2024-0222](https://doi.org/10.1360/SSV-2024-0222)

市场需求的改良品种。

在生活水平不断提高的今天, 国人对猪肉消费的要求已从简单的“有肉吃”逐渐过渡到“吃好肉”。近年来, 以我国地方猪为亲本的杂交高品质黑猪肉备受消费者青睐。据网易未央报道, 在大中城市, 有44%的消费者每周购买3次以上品牌黑猪肉。可以预见, 具有优良肉质的地方猪将成为我国改变生猪种业落后局面的必然选择。肉质的好坏与肌肉的颜色、系水力、pH值、嫩度、风味和多汁性密切相关<sup>[1]</sup>。在保障营养充足、健康安全的前提下, 遗传因素是决定肉质的最根本原因。迄今为止, 国际上已鉴别出造成猪PSE肉(Pale Soft Exudative)的氟烷基基因 $RYR1$ <sup>[2]</sup>、与酸肉发生有关的单磷酸腺苷激活蛋白激酶 $\gamma 3$ 亚基基因( $PRKAG3$ )<sup>[3]</sup>。这两个基因不仅是肉质研究的重大发现, 同时也为实际生产带来了巨大的经济效益。随着研究的不断深入, 已公认脂肪既是制约饲料转化效率和生长速度的重要原因, 又是决定猪肉品质的最重要因素。肌肉脂肪与肉色、剪切力、大理石纹评分的相关系数分别是0.43、0.50和0.91, 因此改善肉质的研究主要集中在提高肌肉脂肪含量上<sup>[4,5]</sup>。

随着现代高密度集约化养殖模式的推广, 生猪疫病带来的风险也随之增加, 这不但制约了养猪业的健康发展, 同时严重威胁公共卫生安全<sup>[6-8]</sup>。猪繁殖与呼吸综合征(Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)又称蓝耳病, 是养猪业中最重要的传染病之一, 每年造成的经济损失高达数十亿美元, 对全球养猪业构成巨大威胁。该病于1987年首先出现在美国中西部, 随后在中欧地区开始流行, 目前已经遍布全球养猪发达地区, 该病历经30多年的流行, 仍未得到有效控制<sup>[9]</sup>, 其病原是猪繁殖与呼吸综合征病毒(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV), 主要感染猪肺泡巨噬细胞, 破坏免疫系统并引起免疫抑制, 造成各年龄段的猪发热、死亡, 引发怀孕母猪流产和产死胎、木乃伊胎。过去30多年的防控实践证明, 利用疫苗免疫、药物等方法控制该病的效果并不理想, 并且其致病机制尚未完全明确。因此, 有必要深入解析PRRSV的致病机制, 并从宿主遗传的角度, 挖掘宿主抗病或易感基因, 采用基因编辑技术, 对猪基因组进行定点突变, 从而培育出抗PRRSV的新种质资源。

## 1 优良肉质性状机制解析及新种质资源创制

### 1.1 猪肌肉脂肪含量差异的决定机制

农业动物脂肪组织储存于皮下、内脏、肌间、肌肉和骨骼等5个主要部位, 是主要的能量储存器官, 同时也是重要的内分泌器官, 能够调控机体能量稳态<sup>[10]</sup>。猪肌肉脂肪与皮下脂肪虽然沉积的部位不同, 但却同属于白色脂肪。陈鹭曦等人<sup>[11]</sup>研究了肌肉脂肪和皮下脂肪的细胞成脂分化, 发现肌肉前体脂肪细胞特异性表达的基因有1533个, 远多于皮下前体脂肪细胞的991个; 分化后, 两种细胞间差异表达的基因数缩减到551个, 且分化前后被差异表达基因显著富集的信号通路大多相同, 说明分化前肌肉与皮下两种前体脂肪细胞间差异较大, 而成脂分化后减少了这种差异。另一方面也说明肌肉脂肪细胞生存环境更复杂, 受到更多基因的调控, 并且在体外诱导分化时, 肌肉前体脂肪细胞的分化效率较低, 聚酯能力较弱。

血管基质细胞(IVSCs)是肌肉脂肪沉积体外研究的细胞模型, 但是并非所有的IVSCs均具备脂肪生成能力。童献等人<sup>[12]</sup>针对广东小耳花猪和约克夏猪(也称为大白猪)的骨骼肌进行细胞分离与有限时间培养(2.5 h), 对贴壁的细胞进行单细胞转录组测序, 发现骨骼肌中能够生成脂肪的细胞来源于成纤维成脂祖细胞亚群( $FAP^{CD9}$ )(图1), 并且在体外研究中进一步得到证实, 从而使研究肌肉脂肪的对象从以前的肌肉脂肪组织或是IVSCs转变为肌肉脂肪真正的来源细胞( $FAP^{CD9}$ )。

除肌肉脂肪细胞的来源外, 猪肌肉脂肪含量差异形成的机制也备受关注。通过单细胞转录组测序分析发现, 刚出生的广东小耳花猪背最长肌中FAPs的数量远远多于大白猪, 几乎是后者的4倍。不仅如此, 广东小耳花猪种 $FAP^{CD9}$ 细胞(成脂祖细胞, APCs)数量达5363个, 占其总FAPs的69.5%, 而大白猪 $FAP^{CD9}$  605个, 仅占总FAPs的32.4%, 再加上前者的FAPs已是后者的4倍, 所以广东小耳花猪的 $FAP^{CD9}$ 细胞数几乎是大白猪的9倍, 这可能是导致其肌肉脂肪多于大白猪的主要原因。此外, 在大白猪中 $FBN1$ -Integrin  $\alpha 5\beta 1$ 轴的表达水平高于广东小耳花猪, 这个调控轴能够在体内外抑制APCs的成脂分化(图1), 这可能是除 $FAP^{CD9}$ 细胞数外, 导致两种不同类型的猪种肌肉前体脂肪细胞分化聚酯效率存在显著差异的重要因素。

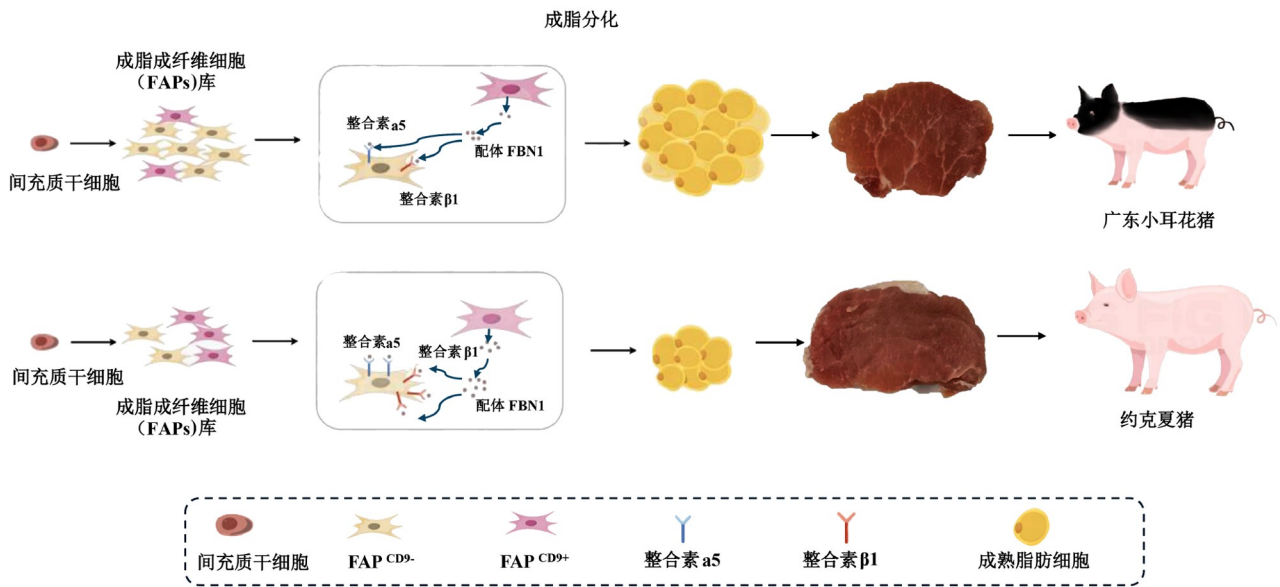


图 1 广东小耳花猪与大白猪FAPs分化及脂肪沉积模式图<sup>[12]</sup>

Figure 1 Differentiation and fat deposition patterns of FAPs in Guangdong Small-eared Spotted Pigs and Large White Pigs<sup>[12]</sup>

脂肪细胞分化潜能的高低受到相关成脂基因的调控。陈可人等人<sup>[13]</sup>研究表明, 地方猪和大白猪之间差异表达的*HMGB2*基因能够与成脂关键因子*C/EBPβ*的启动子结合, 控制脂肪细胞的克隆性增殖(MCE), 从而影响脂肪细胞的增殖和分化。此外, 陈虎等人<sup>[14]</sup>发现, *ATF4*基因能够靶向调控*SREBP1c*基因的表达, 从而调控3T3-L1细胞的成脂分化能力(图2)。

除上述成脂基因外, 郭云学等人<sup>[15]</sup>还研究了肌内脂肪细胞与皮下脂肪细胞中microRNA在分化过程中的差异, 结果发现有10个miRNAs在肌内与皮下脂肪细胞分化之间反向上调或下调。与此同时, 还发现miR-145能够靶向*IRS1*抑制猪脂肪细胞分化<sup>[16]</sup>。陈虎等人<sup>[17,18]</sup>证实了miR-709和miR-344能够通过靶向*Wnt/β-catenin*信号通路的GSK3β调控3T3-L1细胞分化(图2)。

## 1.2 高产优质肉猪新种质资源创制

比利时蓝牛因其发达的“双肌臀”表型和口感鲜美的肉质成为全球知名的高品质肉牛品种, Grobet等人<sup>[19]</sup>通过遗传分析发现其主要是由肌生成抑制素(Myostatin, MSTN)的编码区发生11 bp缺失突变所致。MSTN属于TGF-β超家族成员之一, 是肌肉生长的负调控因子。此外, MSTN还可通过抑制PI3K对AKT的磷酸化激活功能, 抑制mTOR信号通路, 实现对肌纤维

蛋白合成的抑制, 从而抑制肌纤维肥大, 维持肌纤维的正常形态<sup>[20,21]</sup>。中国农业科学院北京畜牧兽医研究所李奎教授团队利用锌指核酸酶(Zinc Finger Nuclease, ZFN)基因编辑技术敲除了梅山猪的*MSTN*, 结果发现敲除纯合子展现出类似比利时蓝牛的“双肌臀”表型, 8月龄时体重增加了约15%, 胴体重增加了约24%, 而瘦肉量增加了近100%。因为肌纤维数量增多而直径减小, 肌肉的剪切力降低, 嫩度显著提高, 总体上呈现出优质高产的表型<sup>[22]</sup>。李瑞强等人<sup>[23]</sup>利用CRISPR-Cas9技术在广东小耳花猪的*MSTN*信号肽编码区进行精准编辑, 引入非移码突变PVD20H(CCGTGG碱基的缺失)和GP19del(TGGTCC碱基的缺失), 结果发现这些突变可削弱*MSTN*信号肽的剪切, 一定程度上降低了*MSTN*成熟肽的分泌, 但保留了*MSTN*的绝大部分正常生物学功能。不仅如此, 编辑猪肌纤维数量显著增多, 从而表现出“双肌臀”表型。此次*MSTN*的精准编辑为创制优质高产家猪新种质资源提供了新靶标。

Van Laere等人<sup>[24]</sup>通过连锁分析发现, 西方瘦肉型猪产肉量高的主要原因是类胰岛素生长因子2(Insulin-like growth factor 2, IGF2)基因第3个内含子的3072位点发生了单碱基突变(G→A), 即*IGF2*-intron3-G3072A突变。该突变破坏了转录抑制因子——锌指BED结构域结合蛋白6(ZBED6)的结合基序, 解除了其对*IGF2*表

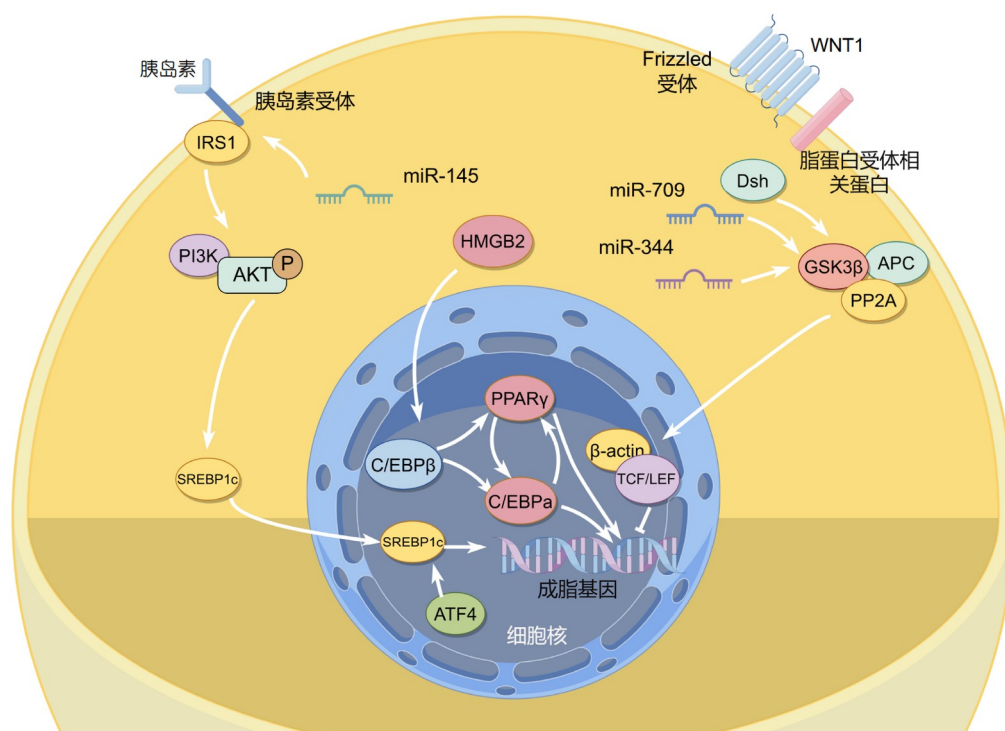


图2 重要基因和miRNAs参与成脂的调控机制

Figure 2 Adipogenesis regulatory mechanisms of related genes and miRNAs

达的抑制作用,使 $IGF2$ 的表达水平提高3倍以上,从而促进肌肉发育,使猪的瘦肉量增加3%~4%,背膘厚降低20%<sup>[25]</sup>。我国绝大部分地方猪种并不携带 $IGF2$ -intron3-G3072A天然突变<sup>[26]</sup>,因此,利用基因编辑技术对ZBED6结合基序进行遗传修饰,解除其对 $IGF2$ 表达的抑制作用,有望精准提高地方猪的瘦肉率。多田琦等人<sup>[27]</sup>利用胞嘧啶碱基编辑器3(CBE3)将 $IGF2$ -intron3-C3071T突变引入广东小耳花猪,破坏了ZBED6的结合基序,使 $IGF2$ 的表达显著上调(图3A)。屠宰测定发现, $IGF2$ 单碱基编辑猪不仅产肉性能获得大幅提高,且肉质性能也获得显著改善,瘦肉产量提升了18%~36%,眼肌面积增大了3%~17%,背膘厚度降低了5%~16%,而肌肉脂肪含量增加了18%~39%。组织水平分析显示,产肉量增多的主要原因是肌纤维明显增粗所致,而肉质改善主要是由肌肉脂肪沉积能力增强所致。分子水平分析首次揭示了 $IGF2$ 通过PI3K-AKT/AMPK信号通路调控SREBP1的表达以促进肌肉脂肪沉积的调控机制(图3B),进一步拓宽了对 $IGF2$ 生物学功能的理解,为通过单碱基编辑创制优质高产地方猪新种质资

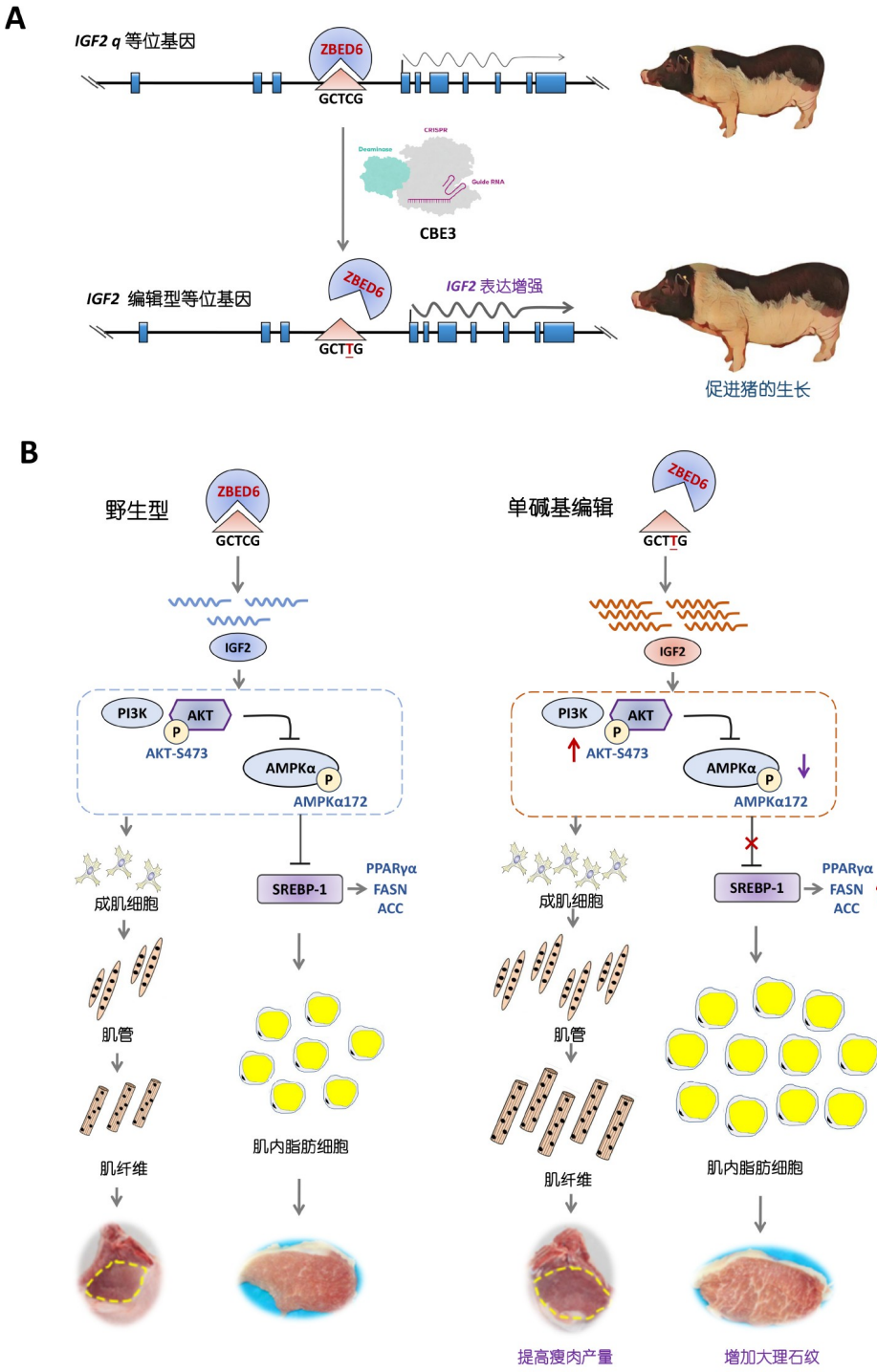
源提供了一个参考范例。

随着生物技术的不断进步,对家猪复杂性状的遗传解析也不断深入,未来将挖掘到更多影响家猪产肉量和肉质性状变异位点,为加快重要经济性状的遗传改良创造条件。但这些经济性状多是数量性状,受大量微效多基因控制。因此,通过改进基因编辑工具或在编辑策略上进行探索,创建可针对数个甚至上百个位点进行高通量编辑技术,将大幅提高家猪产肉量和肉质性状的遗传改良进展。

## 2 猪蓝耳病病毒致病机制解析及抗病猪种质资源创制

### 2.1 猪蓝耳病病毒致病机制解析

抗病育种的核心是鉴定与疾病相关的重要基因,并解析其作用机制。肖书奇等人<sup>[28]</sup>借助二代测序,应用数字基因表达谱技术研究了家猪在感染N-PRRSV(经典北美型PRRSV)后肺泡巨噬细胞(porcine alveolar macrophages, PAMs)在转录水平的应答,共鉴定到



**图 3** 单碱基编辑IGF2同时提高广东小耳花猪产肉量和肉质的调控机制. A: 应用胞嘧啶碱基编辑器3(CBE3)将IGF2-intron3-C3071T突变引入广东小耳花猪, 上调IGF2表达的示意图; B: 单碱基编辑IGF2同时提高广东小耳花猪产肉量和肉质的分子调控机制解析

**Figure 3** The regulatory mechanism of single-base editing of IGF2 to simultaneously improve the meat yield and meat quality of Guangdong small-eared pigs. A: Schematic diagram of the application of cytosine base editor 3 (CBE3) to introduce the IGF2-intron3-C3071T mutation into Guangdong small-eared pigs to upregulate IGF2 expression; B: Analysis of the molecular regulatory mechanism of single-base editing of IGF2 to simultaneously improve the meat yield and meat quality of Guangdong small-eared pigs.

CD163等5430个差异表达基因, 其功能主要与抑制宿主固有免疫反应等相关。魏颖等人<sup>[29]</sup>通过对PRRSV感染后的Marc-145细胞的可变多聚腺苷酸化(APA)和基因转录水平的变化进行研究, 发现相比于mRNA的APA修饰, 基因的差异表达更直接地参与了宿主抗病毒的过程。随后, 又有多项研究借助全转录组学、蛋白质组学和代谢组学等高通量测序技术从不同维度解析了PRRSV的致病机制<sup>[30-32]</sup>。

除上述研究, 本研究团队还通过一系列体内外实验, 使人们对猪蓝耳病发病机制有了更深入的认识, 即PRRSV通过呼吸道或接触等多种途径进入猪体内, 在细胞膜表面分子硫酸乙酰肝素(heparan sulphate, HS)<sup>[33]</sup>、唾液酸黏附素(sialoadhesin, Sn)<sup>[34]</sup>及CD163<sup>[35]</sup>等病毒受体的帮助下侵入靶细胞猪肺泡巨噬细胞<sup>[36]</sup>, 随后病毒通过血液扩散到全身, 感染淋巴结、扁桃体

和脾脏等多个组织和器官<sup>[37]</sup>。PRRSV还能够在猪子宫内膜上皮细胞和胎盘细胞中复制并诱导其凋亡, 最终引发母猪繁殖障碍<sup>[38-40]</sup>。HS在PRRSV感染过程中帮助病毒附着靶细胞, 乙酰肝素酶(HPSE)是唯一已知的能降解HS的酶<sup>[41]</sup>。刘小红等人<sup>[42]</sup>研究发现, PRRSV感染导致HS表达降低, HPSE表达上调, 而过表达HPSE则导致细胞表面的HS表达量降低, 且促进PRRSV的复制和释放。髓系细胞触发受体2(TREM2)作为抗炎受体, 对先天免疫反应进行负调控。肺泡巨噬细胞感染PRRSV后, 巨噬细胞特异表达的TREM2显著升高, TREM2通过抑制促炎细胞因子, 阻止金属蛋白酶ADAM17切割CD163, 从而促进PRRSV感染<sup>[43]</sup>(图4)。这些发现为解析猪蓝耳病病毒致病机制奠定了重要基础, 也为后续培育抗PRRSV的基因编辑猪提供了重要理论依据。

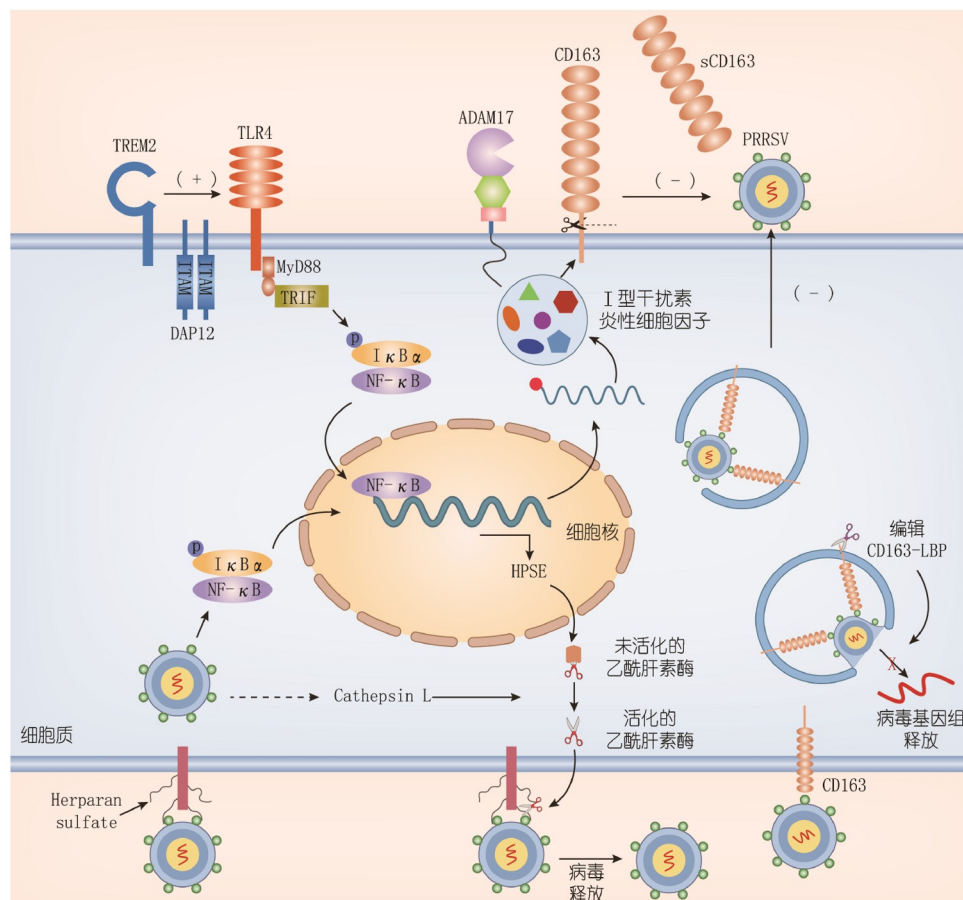


图4 PRRSV通过CD163, TREM2和HPSE等基因调控自身复制的机制

Figure 4 The mechanism by which PRRSV regulates its own replication through genes such as CD163, TREM2, and HPSE

## 2.2 抗蓝耳病猪新种质资源创制

抗病育种是从根本上解决猪蓝耳病的一种重要手段. 一方面, 可以选育具有抗蓝耳病特性的猪种作为潜在的遗传资源, 如感染PRRSV后临床症状较轻的山东莱芜黑猪和湖北通城猪等<sup>[44-46]</sup>. 另一方面, 可以借助CRISPR/Cas9等基因编辑技术, 修饰与猪蓝耳病相关的抗性或易感基因, 从而培育具有抗猪蓝耳病的新种质资源<sup>[47]</sup>.

CD163是PRRSV的受体, 删除CD163的细胞不能感染PRRSV, 从而使宿主获得抗PRRS的能力<sup>[48]</sup>, 因此对猪的CD163基因进行编辑可获得抗蓝耳病的猪. 早在2016年, Whitworth等人<sup>[49]</sup>就通过CRISPR/Cas9技术编辑CD163基因, 基因编辑猪能够完全抵抗PRRSV感染. 随后, 研究人员采用不同策略对CD163进行基因编辑, 获得了一系列能够抗蓝耳病的猪种质资源<sup>[48,50-54]</sup>.

CD163属于清道夫受体, 具有非常重要的功能. 一是清除血液中的血红蛋白, 避免组织遭受其引发的氧化损伤, 二是识别和清除细菌等病原体<sup>[34]</sup>. 因此, 对其进行编辑, 必须找到其介导PRRSV病毒脱壳的关键结构, 实现最小的删除, 从而最大限度地保留CD163的其他功能. CD163受体SRCR5结构域是PRRSV脱壳(基因组释放)的必需结构域, 敲除该结构域的基因编辑猪抵抗PRRSV感染<sup>[48]</sup>. 何祖勇等人<sup>[50]</sup>发现, CD163受体

SRCR5中的LBP结构与病毒GP2a/GP4互作介导病毒粒子脱壳、基因组释放, 利用CRISPR/Cas9基因编辑技术将CD163受体中介导病毒脱壳的氨基酸数目从101个精减到41个, 最大限度保留CD163的生理功能. 攻毒实验表明, 野生型猪精神萎靡、厌食, 而编辑猪无临床症状, 表明这些基因编辑猪能够完全抵抗JXA1等高致病性PRRSV毒株的感染. 此外, 敲除CD163基因中的外显子7<sup>[51,53]</sup>或外显子13<sup>[50]</sup>同样能够获得抵抗PRRSV感染的猪.

针对CD163-LBP 缺失基因编辑猪, 除开展转基因生物安全评价外, 还需要开展经济与免疫性状、育种价值分析等研究. 另一方面, 在现有基础上进一步确定CD163受体中与 PRRSV糖蛋白互作介导病毒脱壳的氨基酸位点, 以期通过点突变或仅删除少数几个碱基达到抵抗 PRRSV感染的效果, 或者以PRRSV敏感基因(如TREM2, HPSE等)为靶标, 培育出新的抗PRRS猪新种质资源.

## 3 展望

随着社会的不断发展, 人们对生物安全愈发重视, 最大限度地减少疫苗的使用将是生猪养殖大势所趋, 利用基因编辑技术并结合多基因聚合技术, 快速培育出既高产优质又能够抵抗若干种重要病原体的新猪种将是生猪抗病育种未来的重要发展方向之一.

## 参考文献

- 1 Rincker P J, Killefer J, Ellis M, et al. Intramuscular fat content has little influence on the eating quality of fresh pork loin chops1. *J Anim Sci*, 2008, 86: 730-737
- 2 Fujii J, Otsu K, Zorzato F, et al. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, 1991, 253: 448-451
- 3 Milan D, Jeon J T, Looft C, et al. A mutation in *PRKAG3* associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science*, 2000, 288: 1248-1251
- 4 Daszkiewicz T, Bak T, Denaburski J. Quality of pork with a different intramuscular fat (IMF) content. *Pol J Food Nutr Sci*, 2005, 14: 31-36
- 5 Zheng W R, Liu M K, Lv X Y, et al. Regulation of intramuscular fat deposition by intestinal microbes in pigs (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2024, 54 [郑婉如, 刘梦宽, 吕欣宇, 等. 肠道微生物对猪肌内脂肪沉积的调控研究. 中国科学: 生命科学, 2024, 54, doi: 10.1360/SSV-2024-0119]
- 6 Lednicky J A, Tagliamonte M S, White S K, et al. Independent infections of porcine deltacoronavirus among Haitian children. *Nature*, 2021, 600: 133-137
- 7 Zhou P, Fan H, Lan T, et al. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature*, 2018, 556: 255-258
- 8 Neumann G, Noda T, Kawaoka Y. Emergence and pandemic potential of swine-origin H1N1 influenza virus. *Nature*, 2009, 459: 931-939

- 9 Cai X, An T. Porcine reproductive and respiratory syndrome: past and present (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2023, 53: 1745–1753 [蔡雪辉, 安同庆. 猪蓝耳病的前世今生. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 1745–1753]
- 10 Jiang Z Y, Yu J Y, Tang G J, et al. Characteristics, development, and evaluation of adipose tissues of beef cattle and mutton sheep (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2023, 53: 945–963 [蒋宗佑, 玉金燕, 唐高建, 等. 肉用牛、绵羊脂肪组织特性、发育规律及其评鉴方法. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 945–963]
- 11 Chen L, Zhang Y, Chen H, et al. Comparative transcriptome analysis reveals a more complicated adipogenic process in intramuscular stem cells than that of subcutaneous vascular stem cells. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 4700–4708
- 12 Tong X, Zhu Q, Duo T, et al. The impact of FBN1- $\alpha$ 5 $\beta$ 1 Axis in fibro/adipogenic progenitor cells (FAP(CD9-)) on intramuscular fat content in pigs. *J Agric Food Chem*, 2024, 72: 9507–9521
- 13 Chen K, Zhang J, Liang F, et al. , HMGB2 orchestrates mitotic clonal expansion by binding to the promoter of C/EBP $\beta$  to facilitate adipogenesis. *Cell Death Disease*, 2021, 12: 666
- 14 Chen H, Yuan R, Zhang Y, et al. ATF4 regulates SREBP1c expression to control fatty acids synthesis in 3T3-L1 adipocytes differentiation. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Gene Regulatory Mech*, 2016, 1859: 1459–1469
- 15 Guo Y, Mo D L, Zhang Y, et al. , MicroRNAome comparison between intramuscular and subcutaneous vascular stem cell adipogenesis. *PLoS ONE*, 2012, 7: e45410
- 16 Guo Y, Chen Y, Zhang Y, et al. Up-regulated miR-145 expression inhibits porcine preadipocytes differentiation by targeting IRS1. *Int J Biol Sci*, 2012, 8: 1408–1417
- 17 Chen H, Mo D, Li M, et al. miR-709 inhibits 3T3-L1 cell differentiation by targeting GSK3 $\beta$  of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Cell Signal*, 2014, 26: 2583–2589
- 18 Chen H, Wang S, Chen L, et al. MicroRNA-344 inhibits 3T3-L1 cell differentiation via targeting GSK3 $\beta$  of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *FEBS Lett*, 2014, 588: 429–435
- 19 Grobet L, Royo Martin L J, Poncelet D, et al. A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat Genet*, 1997, 17: 71–74
- 20 Lee S J. Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20: 61–86
- 21 Sartori R, Gregorevic P, Sandri M. TGF $\beta$  and BMP signaling in skeletal muscle: potential significance for muscle-related disease. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25: 464–471
- 22 Qian L, Tang M, Yang J, et al. Targeted mutations in myostatin by zinc-finger nucleases result in double-muscling phenotype in Meishan pigs. *Sci Rep*, 2015, 5: 14435
- 23 Li R, Zeng W, Ma M, et al. Precise editing of myostatin signal peptide by CRISPR/Cas9 increases the muscle mass of Liang Guang Small Spotted pigs. *Transgenic Res*, 2020, 29: 149–163
- 24 Van Laere A S, Nguyen M, Braunschweig M, et al. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature*, 2003, 425: 832–836
- 25 Markljung E, Jiang L, Jaffe J D, et al. ZBED6, a novel transcription factor derived from a domesticated DNA transposon regulates IGF2 expression and muscle growth. *PLoS Biol*, 2009, 7: e1000256
- 26 Yang G, Ren J, Guo Y, et al. Genetic evidence for the origin of an *IGF2* quantitative trait nucleotide in Chinese pigs. *Anim Genet*, 2006, 37: 179–180
- 27 Duo T, Liu X, Mo D, et al. Single-base editing in IGF2 improves meat production and intramuscular fat deposition in Liang Guang Small Spotted pigs. *J Anim Sci Biotechnol*, 2023, 14: 141
- 28 Xiao S Q, Jia J, Mo D L, et al. Understanding PRRSV infection in porcine lung based on genome-wide transcriptome response identified by deep sequencing. *PLoS ONE*, 2010, 5: e11377
- 29 Wei Y, Li J, Zhang Y, et al. Tandem 3' UTR patterns and gene expression profiles of Marc-145 cells during prrsv infection. *Virol Sin*, 2018, 33: 335–344
- 30 Zhou P, Zhai S, Zhou X, et al. Molecular characterization of transcriptome-wide interactions between highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine alveolar macrophages *in vivo*. *Int J Biol Sci*, 2011, 7: 947–959
- 31 Peng O, Xia Y, Wei Y, et al. Integrative transcriptomic profiling of mRNA, miRNA, circRNA, and lncRNA in alveolar macrophages isolated from PRRSV-infected porcine. *Front Immunol*, 2023, 14: 1258778

- 32 Wu Q, Han Y, Wu X, et al. Integrated time-series transcriptomic and metabolomic analyses reveal different inflammatory and adaptive immune responses contributing to host resistance to PRRSV. *Front Immunol*, 2022, 13: 960709
- 33 Jusa E R, Inaba Y, Kouno M, et al. Effect of heparin on infection of cells by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *ajvr*, 1997, 58: 488–491
- 34 Vanderheijden N, Delputte P L, Favoreel H W, et al. Involvement of sialoadhesin in entry of porcine reproductive and respiratory syndrome virus into porcine alveolar macrophages. *J Virol*, 2003, 77: 8207–8215
- 35 Van Gorp H, Van Breedam W, Delputte P L, et al. Sialoadhesin and CD163 join forces during entry of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Gen Virol*, 2008, 89: 2943–2953
- 36 Zhang Q, Yoo D. PRRS virus receptors and their role for pathogenesis. *Vet Microbiol*, 2015, 177: 229–241
- 37 Frydas I S, Trus I, Kvisgaard L K, et al. Different clinical, virological, serological and tissue tropism outcomes of two new and one old Belgian type 1 subtype 1 porcine reproductive and respiratory virus (PRRSV) isolates. *Vet Res*, 2015, 46: 37
- 38 Zhang K, Ge L, Dong S, et al. Global miRNA, lncRNA, and mRNA transcriptome profiling of endometrial epithelial cells reveals genes related to porcine reproductive failure caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Front Immunol*, 2019, 10: 1221
- 39 Feng L, Zhang X, Xia X, et al. Generation and characterization of a porcine endometrial endothelial cell line susceptible to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res*, 2013, 171: 209–215
- 40 Zhou A, Li S, Khan F A, et al. Autophagy postpones apoptotic cell death in PRRSV infection through Bad-Bec1 interaction. *Virulence*, 2016, 7: 98–109
- 41 Yang Y, Gorzelanny C, Bauer A T, et al. Nuclear heparanase-1 activity suppresses melanoma progression via its DNA-binding affinity. *Oncogene*, 2015, 34: 5832–5842
- 42 Guo C, Zhu Z B, Guo Y, et al. Heparanase upregulation contributes to porcine reproductive and respiratory syndrome virus release. *J Virol*, 2017, 91: e00625–17
- 43 Zhu Z, Zhang X, Dong W, et al. TREM2 suppresses the proinflammatory response to facilitate PRRSV infection via PI3K/NF-kappaB signaling. *PLoS Pathog*, 2020, 16: e1008543
- 44 Liang W, Li Z, Wang P, et al. Differences of immune responses between Tongcheng (Chinese local breed) and Large White pigs after artificial infection with highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virus Res*, 2016, 215: 84–93
- 45 You X, Li G, Yang Y. Breeding for disease resistance is an effective way to solve PRRSV. *Microb Pathog*, 2023, 182: 106251
- 46 Nie L, Xiao Y H, Li D L, et al. Pathogenic analysis of HP-PRRSV in experimentally infected 4-month-old Laiwu black pigs (in Chinese). *Acta Vet Zoo Sin*, 2012, 43: 1079–1087 [聂丽, 肖一红, 李德龙, 等. 高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒对4月龄莱芜黑猪的致病性分析. *畜牧兽医学报*, 2012, 43: 1079–1087]
- 47 Reiner G. Genetic resistance - an alternative for controlling PRRS? *Porcine Health Manag*, 2016, 2: 27
- 48 Yang H, Zhang J, Zhang X, et al. CD163 knockout pigs are fully resistant to highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Antiviral Res*, 2018, 151: 63–70
- 49 Whitworth K M, Rowland R R R, Ewen C L, et al. Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Nat Biotechnol*, 2016, 34: 20–22
- 50 Guo C, Wang M, Zhu Z, et al. Highly efficient generation of pigs harboring a partial deletion of the CD163 SRCR5 domain, which are fully resistant to porcine reproductive and respiratory syndrome virus 2 infection. *Front Immunol*, 2019, 10: 1846
- 51 Wang H, Shen L, Chen J, et al. Deletion of *CD163* exon 7 confers resistance to highly pathogenic porcine reproductive and respiratory viruses on pigs. *Int J Biol Sci*, 2019, 15: 1993–2005
- 52 Salgado B, Rivas R B, Pinto D, et al. Genetically modified pigs lacking CD163 PSTII-domain-coding exon 13 are completely resistant to PRRSV infection. *Antiviral Res*, 2024, 221: 105793
- 53 Chen J, Wang H, Bai J, et al. Generation of pigs resistant to highly pathogenic-porcine reproductive and respiratory syndrome virus through gene editing of *CD163*. *Int J Biol Sci*, 2019, 15: 481–492
- 54 Xu K, Zhou Y, Mu Y, et al. CD163 and pAPN double-knockout pigs are resistant to PRRSV and TGEV and exhibit decreased susceptibility to PDCoV while maintaining normal production performance. *eLife*, 2020, 9: eLife.57132

## **Research progress in pork quality and resistance to porcine reproductive and respiratory syndrome in south China and creation of germplasm resources**

MO DeLin, HE ZuYong, PENG OuYang, TONG Xian, WANG XiaoYu, LIU XiaoHong,  
CAO YongChang & CHEN YaoSheng

*School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China*

Meat quality and disease resistance are critical economic traits in pigs, with significant implications for the industry. Understanding the underlying mechanisms of these traits and developing innovative germplasm resources are essential for future improvements. Intramuscular fat content has been consistently regarded as a key factor influencing pork quality. Through single-cell sequencing and functional identification of adipogenic genes, the research team successfully discovered the causes of high intramuscular fat content in Chinese indigenous pigs. By applying single-base mutation techniques, gene-edited pigs with both high lean muscle mass and elevated intramuscular fat content were generated. Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) has historically caused substantial losses to swine industry and remains one of the most significant infectious diseases affecting swine industry. The research team has made significant discoveries in all stages of the invasion, spread, replication, and release of the virus. Additionally, gene editing was employed to knock out 60 bases in the CD163 receptor protein that specifically mediate viral uncoating, resulting in gene-edited pigs resistant to the PRRSV while preserving the physiological function of CD163. The advancements in these economically important traits provide an important theoretical foundation and new germplasm resources for improving meat quality and breeding disease-resistant pigs. This progress is expected to significantly accelerate the development of pig breeding and farming in China.

**pig, seed industry, meat quality, gene editing, PRRS**

doi: [10.1360/SSV-2024-0222](https://doi.org/10.1360/SSV-2024-0222)