

Massachusetts General Hospital 미니돼지 유래 이종이식용 형질전환 돼지의 번식 특성 분석

지수정, 이진섭, 박상현, 김경운, 변승준, 옥선아, 황성수, 우제석, 오건봉[†]
농촌진흥청 국립축산과학원 동물바이오통과, 전라북도 완주군 이서면 콩쥐팍쥐로 1500, 55365

Reproductive Characteristic of Transgenic Massachusetts General Hospital Miniature Pigs for Xenotransplantation

Soo-Jeong Ji, Gunsup Lee, Sang Hyoun Park, Kyung Woon Kim, Sung-June Byun, Sun A Ock,
Seongsoo Hwang, Jae-Seok Woo and Keon Bong Oh

Animal Biotechnology Division, National Institute of Animal Science, RDA, 1500, Kongwipatjwi-ro, Wanju-gun,
Jeollabuk-do, 55365, Korea

ABSTRACT

Pigs have been extensively used as mediators of xenotransplantation research. Specifically, the Massachusetts General Hospital (MGH) miniature pig was developed to fix major histocompatibility antigens for use in xenotransplantation studies. We generated transgenic pigs for xenotransplantation using MGH pigs. However, it has not been studied yet whether these pigs show similarity of reproductive physiological characteristics to wild types of MGH miniature pig. In this study we analyzed the estrous cycles and pregnancy characteristics of wild type (WT) and transgenic MGH miniature pigs, which were α 1,3-galactosyltransferase (GalT) heterozygous and homozygous knock-out, and membrane cofactor protein (MCP) inserted in its locus, GalT^{-MCP/+} and GalT^{-MCP/-MCP} pigs. Estrous cycles of WT, GalT^{-MCP/+} and GalT^{-MCP/-MCP} pigs were 20.9±0.74, 20.1±1.26, and 17.3±0.87 days, respectively, and periods of estrous were 3.2±0.10, 3.1±0.12, and 3.1±0.11 days. The periods of gestation of WT, GalT^{-MCP/+} and GalT^{-MCP/-MCP} pigs were 114.2±0.37, 113.3±0.67, and 115.4±0.51 days, respectively. Litter sizes of WT, GalT^{-MCP/+} and GalT^{-MCP/-MCP} pigs were 4.8±0.35, 4.8±1.11 and 3.0±0.32 respectively. There were no significant differences on estrous cycle, periods of estrous and gestation, and litter size among WT, GalT^{-MCP/+} and GalT^{-MCP/-MCP} pigs, meaning that GalT knock-out and additional expression MCP of the MGH miniature pig did not effect on reproduction traits. These results provide relevant information to establish breeding system for MGH transgenic pig, and for propagation of GalT^{-MCP/-MCP} pig to supply for xenotransplantation research.

(Key words: α 1, 3-galactosyltransferase, Membrane cofactor protein, Transgenic pig, Estrous cycle)

서론

이종장기 이식 연구를 위해 사람과 해부 생리학적으로 유사한 돼지가 관심의 대상이 되었으며(윤, 2001), 최근에는 성체가 되었을 때 인체와 비슷한 체중 및 장기를 가진 미니돼지가 특히 인간의 장기를 대체할 수 있는 가능성이 높은 동물로 관심이 집중되고 있다(박 등, 2009). 그 중 Massachusetts General Hospital (MGH) 미니돼지는 부조직적합항원(Minor Histocompatibility Antigen)의 변동성을 유지하는 반면, 주요조직적합항원(Major

Histocompatibility Complex Antigen) 유전자를 고정화 시켜 조혈 세포 연구 및 고형 장기이식 연구에 활용할 목적으로 개발되었고(Lunney와 Sachs, 1978; Pennington 등, 1981; Raimon 등, 2015), MGH 미니돼지를 이종이식 연구에 활용할 경우 적어도 미토콘드리아 DNA로부터 합성되는 부 항원에 의한 개체간 차이를 보이지 않을 것이라고 보고되었다(Hanekamp 등, 2009).

MGH 미니돼지를 대상으로 영장류에 이식하면 발생하는 초급성 거부반응 원인 물질인 galactose alpha-1,3-galactose 항원(Gal)을 합성하는 유전자인 alpha-1,3-galactosyltransferase (GalT)의

[†] Correspondence: Keon Bong Oh
Phone: +82-63-238-7254
E-mail: keonoh@korea.kr

기능이 불활성화(knock-out, KO)된 형질전환 돼지가 생산 (Kolber-Simonds 등, 2004) 되었고, 이 돼지의 심장을 바분 원숭이에 이식한 후 병리분석을 통해 초급성 거부반응은 억제되었지만, Gal 이외의 항원에 의한 거부반응이 발생하는 것으로 추정하며 유전자가 추가된 돼지 개발을 제한하는 등 이종이식 연구에 활용되고 있다(Shimizu 등, 2008).

본 연구팀에서도 MGH 돼지에서 분리 및 배양한 세포에 보체 조절 단백질의 하나인 membrane cofactor protein (MCP) 발현 벡터를 GalT 유전자 좌위에 도입하여 핵 치환방법으로 형질전환 돼지를 개발하였다(오 등, 2013; Ko 등, 2013). 그런데, 이제까지 MGH 미니돼지는 이종이식에 의한 거부반응을 제어하기 위한 유전자가 도입된 형질전환 돼지를 개발하고 영양류에 이식하는 연구 분야에 집중되어 왔고, 실제로 개발된 돼지를 이종이식에 활용하기 위해 필수적으로 필요한 증식을 통한 계통 유지와 이식 시점에 맞추어 필요 돼지를 안정적으로 제공하기 위한 번식 특성 관련 세부 연구는 미비한 실정이다. 이전의 연구에서 Ock 등(2014)에 의해 MGH 미니 이종이식용 형질전환 돼지의 임신기간 및 산자 수에 대한 결과를 보고하였을 뿐, MGH 미니 일반돼지와 형질전환 돼지의 발정 생리를 포함한 번식 생리의 추가 연구가 필요한 시점이다.

본 연구에서는 MGH 미니 일반돼지와 GalT 유전자에 MCP 발현벡터가 이형접합 및 동형접합 형태로 도입된 형질전환 돼지의 발정 특성, 임신기간, 산자 수 및 성비(sex ratio) 분석을 통해 도입된 유전자가 번식 생리에 영향을 미치는지를 분석하였고, 그 결과 산자 수에서 동형접합 형질전환 돼지가 상대적으로 적은 경향을 보여주었지만, 번식 생리적인 특성에서 통계적인 유의성에서 차이가 없다는 결과를 보고한다. 이 결과는 이종이식 연구를 위해 제공되는 MGH 미니 형질전환 돼지의 계통 조성과 안정적인 증식에 활용될 것이다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 연구에 사용된 동물은 국립축산과학원에서 사육중인 17-68개월령의 MGH 미니돼지 중 18두의 암돼지를 사용하였으며 일반돼지(Wild Type, WT) 9두, GalT 유전자 좌위에 MCP 발현벡터가 도입된 이형접합 형질전환 GalT^{MCP/+} 돼지 4두, 동형접합 형질전환 GalT^{MCP/MCP} 5두를 본 실험에 공시하였다. 형질전환 돼지는 GalT^{MCP/+} 돼지간 교배로 생산된 자손의 유전자를 polymerase chain reaction (PCR) 방법으로 분석 후 GalT^{MCP/+} 돼지와 GalT^{MCP/MCP} 돼지로 판단하였다. 이를 위해 돼지의 꼬리를 일부 절취하여 조직용해 용액(50mM KCl, 10mM Tris-HCl [pH8.3], 2mM MgCl₂, 0.45% NP-40,

0.5% Tween 20 and 100mg/mL of proteinase K)으로 55℃에서 2시간 동안 항온조에서 용해 후 genomic DNA를 추출하여 PCR 분석 실험에 사용하였다. 형질전환 여부를 확인하기 위하여 141F (5'-AATGGTGGAGAGTAGCTGGGAATGTTACAG-3')와 138R (5'-TTATAG AGAAACAAGAGTCCTAATTGACTTGT-3')를 사용하였다(Fig. 1A). 유전자를 증폭시키기 위한 효소는 HS Prime Taq DNA polymerase (Genet Bio, Korea)를 사용하였으며 PCR 조건은 94℃에서 2분, 94℃에서 30초, 62℃에서 30초, 72℃에서 5분간 40cycle, 72℃에서 10분간 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 전기영동을 실시하여 2.3 kb 크기에서 단일밴드만 확인이 되면 Wild, 2.3 kb와 5.7 kb 두 개의 밴드를 나타내면 GalT^{MCP/+} 형질전환 돼지라고 판단하였으며, 5.7 kb 크기에서 단일 밴드만 확인이 되면 GalT^{MCP/MCP} 형질전환 돼지라고 판단하였다.

2. 발정특성확인 및 임신진단

매일 아침 10시 압컷을 대상으로 육안으로 외음부가 붉게 충혈 되고 부어 오른 것이 관찰되면 발정기로 판단하였으며, 교배는 승가 허용 직후와 24시간 후 2회 자연 교배를 실시하였다. 모든 MGH 미니돼지는 임신의 여부를 확인하기 위하여 자연 교배 후 28일째와 35~40일째 초음파로 진단하여 임신낭(Geataational Sac)이 확인되면 임신한 것으로 판단하고 분만 전 20일경에 분만이 유지되는 지 초음파로 확인하였다.

3. 통계처리

각 발정 주기의 길이와 발정 주기의 간격은 Mean±SEM으로 산출하였으며 각 그룹별 발정주기 및 기간의 비교는 일원 분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여 $p < 0.01$ 수준에서 유의성을 검토하였다.

결과 및 고찰

돼지의 발정주기와 지속기간을 분석하는 것은 배란 시기를 파악하여 교배 적기를 설정하는 번식의 효율을 높일 수 있는 매우 중요한 방법의 하나이다. 더욱이, 이종이식 연구에 활용할 목적으로 주요조직접합항원 유전자를 고정한 MGH 미니 돼지에 거부반응 억제 유전자가 도입된 복제돼지를 개발하여, 이 돼지를 증식 및 계통을 조성하기 위해서는 필수적으로 분석이 요구된다. 이와 더불어 MGH 미니돼지 자체의 번식 특성과 일반돼지와의 차이점 및 MGH 미니돼지에 도입된 유전자에 의한 번식 특성의 영향 분석도 효과적으로 이종이식 연구에 활용하기 위하여 분석이 필요한 항목이다.

본 연구에서 MGH GalT 유전자 좌위에 MCP 발현 벡터가

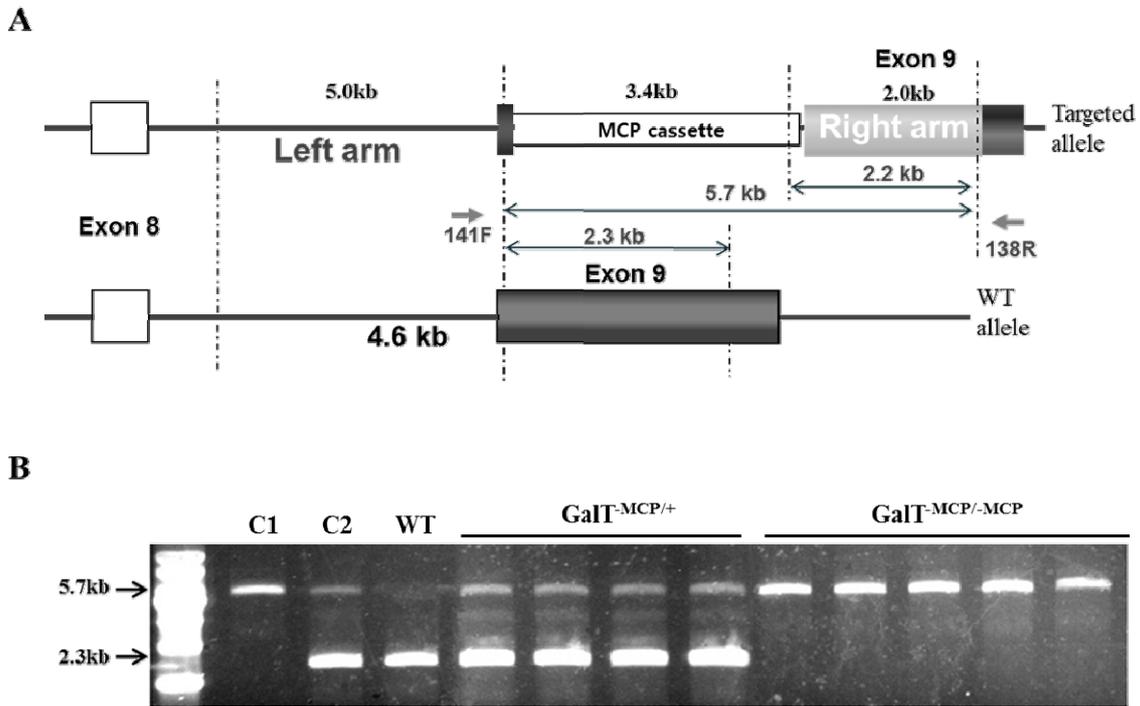


Fig. 1. Confirmation of the transgenic pig targeted to GalT gene of MCP expression cassette. (A) A schematic representation of GalT locus targeting the vector of MCP expression cassette and strategy to confirm the event by PCR analysis. Arrows indicate the PCR primers to verify successful targeting events. (B) Genotype analysis of the MGH miniature pigs subjected to this experiment. PCR analysis shows clearly GalT^{-MCP/MCP} and GalT^{-MCP/+} pigs which were indicated by single band corresponding to 5.7 kb, and double bands corresponding to 2.3kb and 5.7 kb, respectively. The structure of GalT targeting vector of MCP expression cassette was described in Ko et al (2013). C1 and C2 indicate homozygous and heterozygous GalT targeting event of MCP expression cassette as positive control. WT means non-transgenic MGH miniature pig.

도입된 이형접합(heterozygote) 형질전환 GalT^{-MCP/+} 돼지 및 MGH 동형접합(homozygote) GalT^{-MCP/MCP} 돼지는 유전자 분석 후 실험에 공시하였다. Fig. 1B와 같이 PCR 분석 후 5.7kb 크기에서 단일밴드만 확인이 되면 GalT^{-MCP/MCP} 돼지로, 2.3kb와 5.7kb 두 개의 밴드를 나타내면 GalT^{-MCP/+} 돼지로 판단하였다. 대조 군으로서 WT 돼지는 부모 및 조상이 모두 일반돼지로부터 생산된 개체를 지정하여 본 실험에 공시하였다.

이전의 연구에서 돼지의 임신기간에 대한 연구 결과가 보고되었다. 김 등(1988)은 품종 및 환경에 따라 임신기간이 113.5일에서 115.6일로 유의적인 차이가 있었지만, 대부분의 연구에서는 임신기간이 평균 113.5일(Cox, 1964), 114.1일(Omtvedt 등, 1965) 및 115일(김, 1993; Sang 등, 1988)로 품종, 산 차 수 등에 의해 약간의 변동이 있으나 유의적인 차이를 보이지 않는다고 보고하였다. 본 연구에서는 Table 1과 같이 MGH의 WT 미니돼지의 임신기간은 114.2±0.37일로서 위의 보고와 다르지 않았으며, MGH 형질전환 GalT^{-MCP/+} 미니돼지와 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 임신기간도 113.3±0.67일과 115.4±0.51일로서 유의적인 차이가 발견되지 않았다(Table 1).

돼지의 산자 수는 품종에 따라 차이를 보여주고 있으며, Landrace, Hampshire 및 Yorkshire 품종의 평균 산자 수는 각각 8.5두(나 등, 1988), 10.3두(상 등, 1988) 및 9.4두(Young 등, 1976)라고 보고된 바 있다. 본 연구의 MGH WT 미니돼지의 평균 산자 수는 4.8±0.35두로서 일반돼지의 산자 수보다 적었으며, 미니돼지의 산자 수가 일반돼지 보다 적다는 연구 결과는 강 등(2010)에 의해 보고된 바 있다. MGH 형질전환 GalT^{-MCP/+} 미니돼지와 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 산자 수는 4.8±1.11두와 3.0±0.32두로서 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 산자 수가 WT 및 GalT^{-MCP/+} 미니돼지보다 적은 것으로 분석되었으나, 통계적으로 유의적인 차이는 발견되지 않았다(Table 1). 또한 태어난 자손의 성비를 분석한 결과 수컷의 비율은 MGH WT, GalT^{-MCP/+}, GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지에서 각각 60%, 40% 및 40%로 MGH WT 미니돼지에서 수컷의 비율이 약간 높은 경향을 보여주었으나(Table 1), 유의적인 차이는 발견되지 않아, 이는 일반 돼지에서 산자의 성비는 암수 거의 같은 비율로 유의적인 차이가 없었다는 이전의 보고(Hale 과 Bondari, 1986; Lamberson 등, 1988)와 다르지 않았다.

Table 1. Analyses of gestation period, litter size and sex ratio of piglets of the MGH transgenic miniature pig

Group	n	Gestation period (days)	Litter size (No.)	Sex ratio at birth ^a
WT	9	114.2±0.37	4.8±0.35	0.6±0.04
GalT ^{-MCP/+}	4	113.3±0.67	4.8±1.11	0.4±0.18
GalT ^{-MCP/MCP}	5	115.4±0.51	3.0±0.32	0.4±0.22

Data are presented as Means±SEM.

^a Total number of males/total number of piglets.

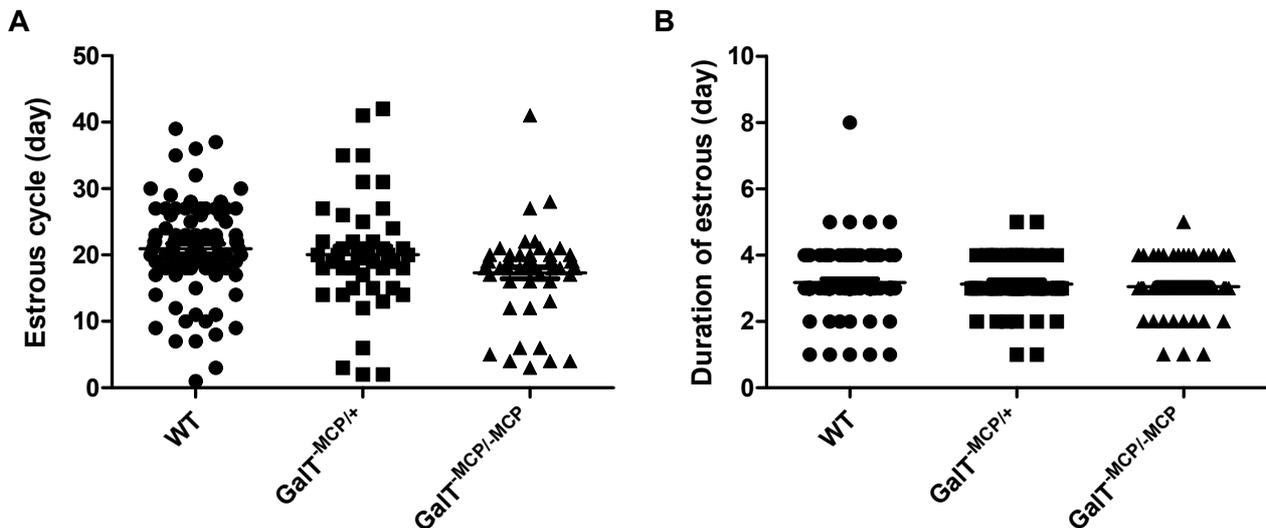


Fig. 2. Analyses of estrous cycle and duration of estrus (Mean±SEM) in the MGH miniature pigs. Wild type (WT), GalT^{-MCP/+} and GalT^{-MCP/MCP} pigs were subjected to measure estrous cycle (A) and duration of estrus (B) every day for 14 months.

일반적으로 농장에서 사육되는 돼지의 발정주기 및 발정지속기간은 각각 평균 21.3일과 2.2일이며, 특히 발정지속기간은 발정 횟수 및 계절에 따라 달라지는데 평균 2.0일에서 길게는 2.5일이라고 보고되었다(Kim, 1983). MGH WT 미니돼지의 발정주기는 20.9±0.74일이었고, 발정지속기간은 3.2±0.10일로 분석되어 농장에서 사육되는 일반 돼지 보다 발정주기가 짧은 대신 발정지속기간은 길었으나 통계적으로 유의적 차이는 발견되지 않았다. 형질전환 GalT^{-MCP/+} 미니돼지와 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 발정주기는 각각 20.1±1.26일과 17.3±0.87일이었고, 발정지속기간은 각각 3.1±0.12 일과 3.1±0.11일로 분석되었다. GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 발정주기가 WT과 GalT^{-MCP/+} 미니돼지보다 약 3일 정도 적은 것으로 분석되었으나, 통계적으로 유의적 차이는 발견되지 않았다(Fig. 2A 및 B).

돼지의 장기를 영장류에 이식하면 발생하는 거부반응을 억제시킬 수 있는 유전자가 도입된 형질전환 돼지를 개발한 후 실제 영장류에 이식하는 연구를 수행하기 위해서는 많은 기간이 필요하다. 이의 첫 번째 원인은 개발된 형질전환 돼지 1두로부터 충분한 숫자로 증식 및 계통을 조성하는 기간이 필요하기 때문일 것이다. 실제로 본 연구팀에서 이형접합 GalT^{-MCP/+} 미

니돼지 개발 후 이 돼지로부터 동형접합 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지를 개발하고 영장류에 이식할 수 있는 돼지 수를 증식하기까지 많은 기간이 소요되었다(미 발표 결과). 또한 바분과 같은 영장류에 심장의 이종이식 연구를 위해서는 대략 1개월령의 돼지를 활용하고 있어(Mohiuddin 등, 2016), 이종이식용으로 개발된 형질전환 돼지를 실제로 영장류에 이식 연구를 수행하기까지의 기간 단축과 이식 일정 조절을 위해서 돼지의 번식 생리 및 특성 분석이 필수적으로 요구된다.

MGH 미니돼지 유래 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 번식 특성을 분석한 결과 임신 기간은 115.4일이었고, 산자 수는 3두였으며, 발정주기는 17.3일이었고, 발정지속기간은 3.1일이었다. 이러한 결과는 MGH WT과 GalT^{-MCP/+} 미니돼지의 결과와 유의적인 차이를 보이지 않아 GalT 유전자의 knock-out과 MCP의 발현이 번식 생리에는 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다. 그러나 산자 수와 발정주기가 4.8두와 21일인 MGH WT 미니돼지의 결과와 차이를 보이고 있어, 더 많은 수의 개체 분석이 필요하다고 생각된다.

본 연구팀에서 보유하고 있는 MGH 미니돼지 유래 GalT^{-MCP/MCP} 미니돼지의 장기를 원숭이에 이식하는 연구에 활용되

고 있으며, 본 연구의 결과는 이종이식에 활용하기 위한 돼지의 계통 조성 과 이종이식 일정 조정에 효과적으로 사용되고 있다.

결 론

돼지는 다른 포유동물에 비해 생리 및 장기 형태가 인간과 가장 유사하여 이종이식용 형질전환 연구의 매개체로서 이용되고 있다. 그 중 Massachusetts General Hospital (MGH) 미니 돼지는 주요조직적합항원을 고정화하여 이종이식 연구 활용을 위해 개발되었다. 그러나 MGH 미니돼지 및 상기 돼지 유래 이종이식용 형질전환 돼지의 번식생리학적 특성에 대하여 연구된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 MGH 미니 일반돼지와 GalT 유전자에 MCP 발현백터가 이형접합 및 동형접합 형태로 도입된 GalT^{MCP/+}, GalT^{MCP/MCP} 형질전환 돼지의 발정 특성, 임신기간, 산자 수 및 성비 분석을 통해 도입된 유전자가 번식 생리에 영향을 미치는 지를 분석하였다. 그 결과 GalT^{MCP/MCP} 형질전환 돼지가 산자 수에서 상대적으로 적은 경향을 보였으나, 번식 생리적인 특성에는 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 본 연구 결과를 바탕으로 MGH 미니 돼지에 도입된 거부반응 억제 유전자는 번식 생리적인 특성에 영향을 미치지 않는다는 것을 확인하였으며, 이를 통해 이종이식 연구를 위해 MGH 미니 형질전환 돼지의 계통 조성 과 안정적인 증식에 활용될 것이다.

ACKNOWLEDGMENTS

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 바이오장기용 형질전환 돼지 생산 및 계통 조성, 세부과제번호: PJ01094403)의 지원에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

강경원, 최영환, 김광호, 김유용. 2010. 미니돼지 및 일반 돼지의 임신기, 분만 및 포유기 중의 모든의 행동학적 특성 비교. *J. Anim. Sci. Technol.* 52:57-64.
 김상철. 1993. 돼지에서 산차와 분만계절에 따른 임신기간 및 분만 자돈에 관한 연구. *Korean J. Emb. Trans.* 8:97-103.
 김용환, 백동훈, 신원집. 1988. 돼지의 임신기간과 산자 성비에 미치는 몇 가지 환경요인의 효과. *Korean J. Anim. Sci.* 30:406-410.

나종삼, 최호성, 백동훈, 신원집. 1988. 돼지의 산자 수와 이유시 생존율에 미치는 환경요인의 효과. *Korean J. Anim. Sci.* 30:471-476.
 박정규, 김정식, 신준섭, 김용희, 김상준. 2009. 이종장기이식의 현황과 전망. *J. Korean Soc. Transplant* 23:203-213.
 오건봉, 김벨라, 황성수, 옥선아, 임석기, 박진기. 2013. α 1,3-Galactosyltransferase 유전자 좌위에서 Membrane Cofactor Protein을 효과적으로 발현하는 자성 돼지 섬유 아세포의 생산. *J. Emb. Trans.* 28:289-295.
 윤종택. 2001. 장기 이식과 체세포복제 돼지의 이용. *遺傳工學 研究論集* 14:51-59.
 Lamberson WR, Blair RM, Rohde Parfet KA, Day BN and Johnson RK. 1988. Effect of sex ratio of the birth litter on subsequent reproductive performance of gilts. *J. Anim. Sci.* 66:595-598.
 Kolber-Simonds D, Lai L, Watt SR, Denaro M, Arn S, Augenstein ML, Betthausen J, Carter DB, Greenstein JL, Hao Y, Im GS, Liu Z, Mell GD, Murphy CN, Park KW, Rieke A, Ryan DJ, Sachs DH, Forsberg EJ, Prather RS, and Hawley RJ. 2004. Production of alpha-1, 3-galactosyltransferase null pigs by means of nuclear transfer with fibroblasts bearing loss of heterozygosity mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101:7335-7340.
 Cox DF. 1964. Genetic variation in the gestation period of swine. *J. Anim. Sci.* 23:746-751.
 Hale OM and Bondari K. 1986. Effect of crossbreeding on genetic improvement of growth and reproduction in pigs. *Growth* 50:526-536.
 Hanekamp JS, Okumi M, Tena A, Am S, Yamada K, and Sachs DH. 2009. Cytoplasmic inheritance of transplantation antigens in animals produced by nuclear transfer. *Transplantation* 88:30-37.
 Kim C-K. 1983. Observation of estrus and control of abnormal estrus in cattle and pig. *Korean J. Anim. Sci.* 25:560-573.
 Ko N, Lee JW, Hwang SS, Kim B, Ock SA, Lee SS, Im GS, Kang MJ, Park JK, Oh SJ, and Oh KB. 2013. Nucleofection-mediated α 1, 3-galactosyltransferase gene inactivation and membrane cofactor protein expression for pig-to-primate xenotransplantation. *Anim. Biotechnol.* 24:253-267.
 Lunney JK and Sachs DH. 1978. Transplantation in miniature swine. IV. Chemical characterization of MSLA and Ia-like antigens. *J. Immunol.* 120:607-612.
 Mohiuddin MM, Singh AK, Corcoran PC, Thomas ML, Clark

- T, Lewis BG, Hoyt RF, Eckhaus M, Pierson RN, Belli AJ, Wolf E, Klymiuk N, Phelps C, Reimann KA, Ayares D, and Horvath KA. 2016. Chimeric 2C10R4 anti-CD40 antibody therapy is critical for long-term survival of GTKO.hCD46.hTBM pig-to-primate cardiac xenograft. *Nat. Commun.* 7:11138.
- Ock S-A, Oh K-B, Hwang S-S, Lee J-K, Kim Y-G, Moon S-W, Kwon D-J, Yun I-J, and Park E-W. 2014. Growth Rate of Transgenic Pigs and Size of Pig Hearts for Xenotransplantation to Cynomolgus Monkey. *J. Emb. Trans.* 29:333-337.
- Omtvedt IT, Stanislaw CM and Whatley JA. 1965. Relationship of gestation length, age and weight at breeding and gestation gain to sow productivity at farrowing. *J. Anim. Sci.* 24:531-535.
- Pennington, LR, Lunny JK., and Sachs DH. 1981. Transplantation in miniature swine: VIII. Recombination within the major histocompatibility complex of miniature swine. *Transplantation* 31:66-71.
- Raimon DS, Abraham JM and Christene AH 2015. Myeloid leukemias and virally induced lymphomas in miniature inbred swine: Development of a large animal tumor model. *Front. Genet.* 6:332. DOI: 10.3389/gene.2015.00332.
- Sang BC, Kang MS, and Park GD. 1988. Effects of Breed and Environmental Factors on Reproductive Traits in swine. *Korean J. Anim. Sci.* 30:590-595.
- Shimizu A, Hisashi Y, Kuwaki K, Tseng YL, Dor FJ, Houser SL, Robson SC, Schuurman HJ, Cooper DK, Sachs DH, Yamada K, and Colvin RB. 2008. Thrombotic microangiopathy associated with humoral rejection of cardiac xenografts from alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs in baboons. *Am. J. Pathol.* 172:1471-1481.
- Young LD, Johnson RK, and omtvedt LT. 1976. Reproductive performance of swine bred to produce purebred and two-breed cross litters. *J. Anim. Sci.* 42:1133-1149.

Received August 03 2017, Revised August 29 2017,
Accepted September 08, 2017