

# 牛催乳素受体基因遗传多态性及其与部分精液品质性状的关联分析\*

宋永利<sup>1</sup>, 刘 畅<sup>2</sup>, 秦丽红<sup>1</sup>, 张金玉<sup>1</sup>, 赵玉民<sup>3</sup>, 赵志辉<sup>1\*\*</sup>

1. 吉林大学畜牧兽医学院, 长春 130062; 2. 山东省农业科学院, 济南 250100; 3. 吉林省农业科学院, 公主岭 136100

**摘要:** 采用 PCR-SSCP 方法对种公牛群体的催乳素受体基因(PRLR)所有外显子及 5' UTR 多态性进行检测。结果表明: 外显子 1 及外显子 8 分别检测到了 2 种等位基因 A、B 和 C、D, 其中 A、C 为群体中优势基因, 其他外显子及 5' UTR 没有遗传多态性; 相关性分析表明, 第 1 外显子位点 AA 型鲜精顶体完整率显著高于 AB 型 ( $P = 0.012$ ), 第 8 外显子位点 CD 型冻精活力显著高于 CC 型和 DD 型 ( $P = 0.004$ )。初步推断 PRLR 为影响种公牛繁殖性状的一个候选基因。

**关键词:** 种公牛; 催乳素受体; 生产性状

中图分类号: S823.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-5684(2010)02-0195-05

## SNP Analysis of Prolactin Receptor Gene and Its Relationship with Semen Quality in Bulls

SONG Yong-li<sup>1</sup>, LIU Chang<sup>2</sup>, QIN Li-hong<sup>1</sup>, ZHANG Jin-yu<sup>1</sup>, ZHAO Yu-min<sup>3</sup>, ZHAO Zhi-hui<sup>1</sup>

1. College of Animal Science and Veterinary, Jilin University, Changchun 130062, China; 2. Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 3. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China

**Abstract:** The exons and 5' UTR polymorphisms of PRLR gene in bulls were detected in this research by PCR-SSCP. The result showed that alleles A, B in exon 1 and C, D in exon 8 were detected in this population, among which A and C dominated, and there was no polymorphism in other exons and 5' UTR; The relationship between genotypes and performances was analyzed, and the results indicated that fresh ac integrity rate of genotype AA was higher than genotype AB in exon 1 and frozen semen energy of genotype CD was much higher than genotypes CC and DD in exon 8. It was initially concluded that PRLR is one of the candidate genes for breeding traits.

**Key words:** bull; prolactin receptor; performance

催乳素(Prolactin, PRL)是一种垂体前叶肽类激素, 而催乳素受体(prolactin receptor, PRLR)属于细胞因子受体家族成员。催乳素在动物体内的作用如促进生长和发育、调节内分泌和代谢等<sup>[1]</sup>均由 PRLR 调节。近年来国内外对 PRLR 的研究

日益深入。Rothschild 等将 PRLR 基因作为猪繁殖性状的一个候选基因进行了研究, 对每一种基因型都计算了总产仔数和活产仔数的最小二乘平均值, 结果表明这个基因与总产仔数和(或)活产仔数显著相关, 在纯合基因型之间, 效应大小是每窝

\* 基金项目: 国家“863”计划项目(2008AA101010), 国家科技支撑计划项目(2007BAD55B03)

作者简介: 宋永利, 男, 硕士, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。

收稿日期: 2009-03-04 修回日期: 2009-12-03

\*\* 通讯作者

增加 0.66~1.00 头的仔猪<sup>[2]</sup>。Ormandy 等<sup>[3]</sup>通过大鼠胚胎干细胞的基因定位得知其携带着 PRLR 的种系无效突变基因,该基因对繁殖性状有很大的影响。杂合的雌鼠表现为在其最初妊娠期间缺乏泌乳能力,且还表现出多种不正常的生殖现象。Botstein 等人已经证实, PRLR 在人睾丸和附属组织中表达<sup>[4,8]</sup>。张佳兰等通过试验推测牛 PRLR 基因内含子 8 *Hinf* 多态影响 PRLR 基因表达,从而提高乳蛋白基因的表达,提高了乳蛋白率<sup>[9]</sup>。不过针对种公牛精液品质与 PRLR 的相关研究未见报道<sup>[10-12]</sup>。

本研究以 PRLR 为肉用种公牛精液品质性状候选基因,采用 PCR-SSCP 方法检测其外显子及 5' UTR 的多态性,并分析其与精液品质性状的关系,寻找与生产性能相关的多态位点,从分子水平

上研究该种公牛群体的基因表达调控、分析基因变异与其精液品质经济性状的相关性,旨在为肉用公牛的遗传改良奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及血样

试验动物共 45 头种公牛,由吉林省长春市肉牛繁育中心提供。采集颈静脉血样,加肝素钠抗凝, -80℃ 保存。

### 1.2 引物设计

根据已发表的牛 PRLR 基因序列 (NW\_001493958),利用 Primer Premier 5.0 软件设计引物,引物由上海生工生物制品有限公司合成。具有多态片段的引物序列如表 1。

表 1 引物序列表

Table 1. The sequences of primers

名称 Name	序列 5' ~ 3' Primer	大小/bp Length	Tm/℃
Exon 1	F: GCCTGTTCTTGAGCCCTCTCT R: AGATAGCAACATCCTGGTATTGGTG	298	62
Exon 8	F: AGGGAGTAAAAAGAACAAGACAGT R: TTCAGCAAGGAGCAAGAATCAG	258	60

### 1.3 PCR 扩增及扩增产物 SSCP 分析

PCR 反应体系 25 μL,包括 2.5 μL 的 10 倍 buffer, 1 μL dNTP (10 mmol/L), 上游引物和下游引物各 0.5 μL (10 pmol/μL), 基因组 DNA 0.8 μL, *Taq* 酶 0.5 μL (5 U/μL, 含 20 mmol/L MgCl<sub>2</sub>), 灭菌去离子水 19.2 μL。PCR 扩增条件为 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, Tm 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 30 个循环; 72℃ 延伸 8 min, 4℃ 保存。PCR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳:取 2 μL 的 PCR 产物与 8 μL 的变性 buffer (98% 去离子甲酰胺, 10% 甘油, 10 mmol/L EDTA, 0.025% 二甲苯青, 0.025% 溴酚蓝) 混匀, 98℃ 变性 10 min, 迅速冰浴 10 min, 用 9% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶 (丙烯酰胺: N, N'-亚甲双丙烯酰胺 = 29:1) 电泳 (4℃, 160 V) 16~18 h, 硝酸银染色后在凝胶成像系统中拍照, 保鲜膜封好, 4℃ 保存。

### 1.4 精液品质各项指标检测方法

#### 1.4.1 射精量 采精时由集精杯读出。

1.4.2 精子活力 取鲜精和解冻后冻精精液各 20 μL, 置于 38℃ 恒温载物台上的载玻片并加盖玻片, 于带有监视器屏幕的 400 倍显微镜下观测其活力。

1.4.3 精子密度 利用 0.9% NaCl 溶液将鲜精精液 5 倍稀释, 由精子密度测定仪测得。

1.4.4 顶体完整率 将每份鲜精和解冻后冻精精液样品制作 2 个抹片, 用 1~2 mL 中性福尔马林固定, 风干后姬母萨染液浸泡染色 1.5 h, 清水冲洗, 显微镜 1000 倍油镜下观察。

1.4.5 畸形率 制片、染色同本文“1.4.4”, 或用同一染片, 于 400 倍显微镜下观察。

1.4.6 活精子百分数 用伊红-苯胺兰法染色, 随即制作抹片, 自然风干后, 于 400 倍显微镜下观察。

### 1.5 统计分析

采用 SPSS 12.0 统计软件 Analyse GLM 过程分析 PRLR 基因的遗传多态性与冻精顶体完整率、冻精畸形率、冻精活精子比率、鲜精顶体完整率、鲜精畸形率、鲜精活精子比率、射精量 (mL)、

精子密度、鲜精活力、冻精活力性状的相关性, 根据影响精液品质性状的因素不同, 分析时采用了以下固定模型:

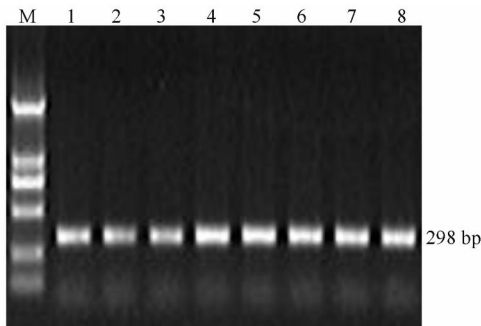
$$Y_i = \mu + M_i + e_i$$

其中  $Y_i$  为第  $i$  种基因型个体表型记录;  $\mu$  为精液品质性状的最小二乘均值;  $M_i$  为标记基因型效应值;  $e_i$  为随机误差。运用 SPSS12.0 软件对数据进行分析, 并用最小二乘拟合线性模型, 对各标记基因间生产性状指标差异显著性进行检验。

## 2 结果与分析

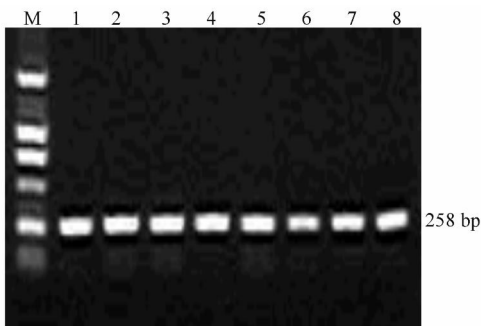
### 2.1 PCR 扩增结果

PCR 扩增产物经 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。图 1、图 2 分别为外显子 1、外显子 8 的扩增产物, 可看到特异的目的条带, 扩增效果较好, 片段长度与所设计的扩增片段大小一致。可以用于 SSCP 分析。



1~8. PCR 扩增结果 PCR amplification results; M. DL2000 Marker

图 1 外显子 1 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图  
Fig. 1. Electropherogram of exon 1



1~8. PCR 扩增结果 PCR Amplification results; M. DL2000 Marker

图 2 外显子 8 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图  
Fig. 2. Electropherogram of exon 8

### 2.2 SSCP 分析结果

PCR 扩增产物经 9% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 银染后可区分出基因型。其中外显子 1 分别定义为 AA 型、AB 型, 如图 3 所示, 第 1、3 泳道为 AB 型, 其余泳道为 AA 型。外显子 8 分别定义为 CC 型、DD 型和 CD 型, 如图 4 所示, 第 1、8 泳道为 CD 型, 第 3、4、5 泳道为 DD 型, 其余为 CC 型。

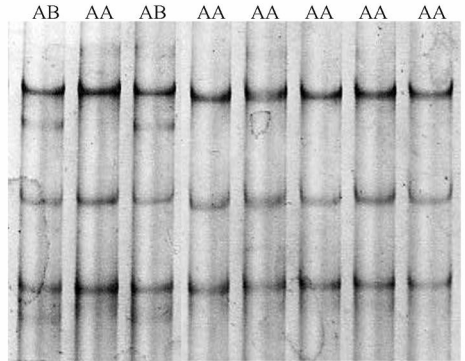


图 3 外显子 1 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图  
Fig. 3. Patterns of SSCP for exon 1

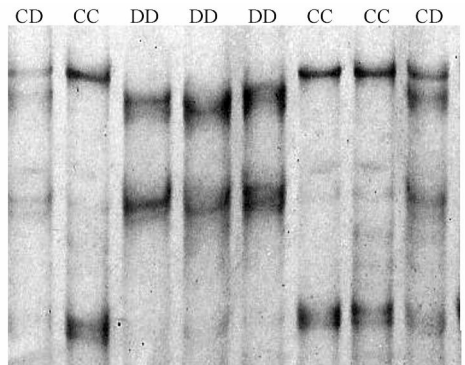


图 4 外显子 8 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图  
Fig. 4. Patterns of SSCP for exon 8

### 2.3 基因频率与基因型频率

经过分析, 该种公牛群体中 PRLR 基因各基因型频率及基因频率如表 2 所示。外显子 1 中, AA 基因型频率较高, 外显子 8 中各个基因型分布较均匀。等位基因 A 在群体中占有较大优势, C、D 等位基因频率基本一致。

表2 基因频率与基因型频率  
Table 2. Gene and genotype frequencies

等位基因 Allele	基因频率 Gene frequency	基因型 Genotype	碱基突变 Mutation	个体数 Biomass	基因型频率 Genotypic frequency
A	0.9222	AA	C	38	0.8445
B	0.0778	AB	CT	7	0.1555
C	0.5889	BB	T	0	0
D	0.4111	CC	G, T	18	0.4000
		CD	G/A, T/C	17	0.3778
		DD	A, C	10	0.2222

2.4 克隆测序

对5种基因型样本的PCR产物进行凝胶回收纯化→pMD-18T载体连接→转化DH5α→质粒提取→测序。测序结果发现,外显子1第135bp处发生C/T突变,外显子8第52bp和53bp处分别发生G/A和T/C突变。测序峰图(图5)箭头所指为碱基突变处。

2.5 不同基因型对种公牛精液品质性状的影响

采用SPSS12.0中One-Way ANOVA分析PRLR基因第1外显子、第8外显子不同基因型对种公牛精液品质性状的影响,其统计结果见表3及表4。其中外显子1不同基因型在此种公牛群体中鲜精顶体完整率性状差异显著(P=0.012)。外显子8的不同基因型冻精活力性状差异极显著

(P=0.004)。各种基因型的其他生产性状之间差异不显著。

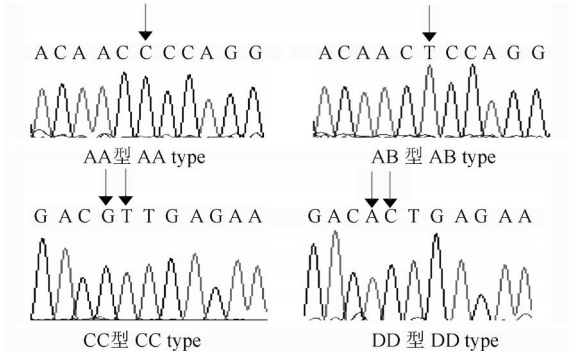


图5 4种基因型突变的测序峰图

Fig. 5. The sequencing maps of mutations in 4 genotypes

表3 外显子1不同基因型对种公牛精液品质性状的影响

Table 3. Relationships between genotypes and performances of exon 1

性状 Traits	基因型 Genotype		Sig
	AA	AB	
冻精顶体完整率/% Acrosome integrity, Frozen	87.24±0.67	86.32±1.89	0.606
鲜精顶体完整率/% Acrosome integrity, Fresh	92.45±0.64	88.14±1.67	0.012*
冻精畸形率/% Percentage of deformity, Frozen	30.94±1.53	32.37±4.02	0.720
鲜精畸形率/% Percentage of deformity, Fresh	23.85±1.22	25.25±2.30	0.657
冻精活精子比率/% Percentage of living, Frozen	69.50±1.19	69.07±3.81	0.890
鲜精活精子比率/% Percentage of living, Fresh	84.12±1.03	85.37±3.63	0.661
射精量/mL Ejaculation volume	6.56±0.39	8.18±1.72	0.169
精子密度/(×10 <sup>8</sup> mL <sup>-1</sup> ) Sperm concentration	6.94±0.24	7.19±0.55	0.692
鲜精活力/% Sperm motility, Fresh	66.93±1.02	67.57±3.04	0.815
冻精活力/% Sperm motility, Frozen	42.16±0.68	41.86±1.65	0.863

注：“\*”表示差异显著 P<0.05 Note: “\*” significant at 0.05 levels, respectively

表 4 外显子 8 不同基因型对种公牛精液品质性状的影响  
Table 4. Relationships between genotypes and performances of exon 8

性状 Traits	基因型 Genotype			Sig
	CC	CD	DD	
冻精顶体完整率/ % Acrosome integrity, Frozen	87.46 ± 0.97	86.27 ± 1.08	87.85 ± 1.35	0.588
鲜精顶体完整率/ % Acrosome integrity, Fresh	91.89 ± 1.19	92.19 ± 0.83	90.87 ± 1.37	0.742
冻精畸形率/ % Percentage of deformity, Frozen	30.65 ± 2.51	30.39 ± 2.23	33.41 ± 2.65	0.706
鲜精畸形率/ % Percentage of deformity, Fresh	23.81 ± 1.91	23.47 ± 1.59	25.56 ± 2.71	0.778
冻精活精子比率/ % Percentage of living, Frozen	68.29 ± 2.05	70.82 ± 1.36	69.13 ± 2.91	0.626
鲜精活精子比率/ % Percentage of living, Fresh	84.50 ± 1.69	83.75 ± 1.56	84.94 ± 2.37	0.902
射精量/ mL Ejaculation volume	6.82 ± 0.77	6.76 ± 0.46	6.90 ± 1.13	0.993
精子密度/ ( × 10 <sup>8</sup> · mL <sup>-1</sup> ) Sperm concentration	7.29 ± 0.42	6.59 ± 0.29	7.09 ± 0.39	0.362
鲜精活力/ % Sperm motility, Fresh	66.67 ± 1.40	68.03 ± 1.92	66.00 ± 1.59	0.712
冻精活力/ % Sperm motility, Frozen	41.28 ± 0.95	45.00 ± 0.66	40.50 ± 1.38	0.004 <sup>**</sup>

注: “\* \* \*”表示差异显著  $P < 0.01$  Note: “\* \* \*” significant at 0.01 levels, respectively

### 3 讨论

随着肉牛冷冻精液技术的推广与普及,对种公牛的质量要求越来越高,种公牛的选择也越严格,种公牛对改良和提高整个牛群的重要性显得更为突出。

本试验在同一种公牛群体中研究 PRLR 基因外显子及 5' UTR 的单核苷酸多态性位点与一些精液品质性状的关系,并对发现突变的外显子单核苷酸多态性位点与部分精液品质性状的关系进行相关分析。其中外显子 1 的 2 个等位基因只检测到了 2 种基因型,群体中没有检测到 BB 型纯合子个体,这可能与群体数量有关。统计结果表明,外显子 1 处的突变 AB 基因型在鲜精顶体完整率这一项指标上显著低于 AA 基因型 ( $P = 0.012$ ),可见等位基因 B 对这一性状存在较严重的负面影响,可以作为淘汰生产性能不良个体的一项参考。外显子 8 的 2 个等位基因 3 种基因型同样存在较好的遗传多态性,并在冻精活力这一精液品质性状上,3 种基因型存在明显差异。其中 CC 型与 DD 型这两种纯合型差异并不明显,而 CD 杂合型个体的冻精活力要显著高于纯合型个体 ( $P = 0.004$ ),表明基因杂合能够有效地提高这

一性状的杂种优势,可以通过群内杂交扩大杂种个体规模来提高该性状的个体生产力。

PRLR 基因转录至少受 2 种不同机制的影响,一种是直接作用,另一种是依赖于持续的蛋白质合成过程。对于后者,本试验所检测到的突变虽然并未引起编码氨基酸的改变,但合成后的蛋白质存在受体结合位点发生相应变化的可能性,会影响结合过程,改变对繁殖性能影响的相关生物学作用。PRLR 基因在雄性哺乳动物的睾丸、前列腺多种组织中表达,暗示着其在公牛精液生成过程中可能会产生相关作用,进而影响鲜精顶体完整率以及冻精活力这两项指标。但育种工作要权衡利弊,需要进一步收集和分析数据来确证这个基因不存在负面基因效应影响,而且需要增加每一个品系中的动物个体和记录数目来证实这种效应。

#### 参考文献:

- [1] 周国利,朱奇,吴玉厚,等.奶牛催乳素基因多态性与产奶性状的关系[J].吉林农业大学学报,2006,28(1):80-83.
- [2] Rothschild M F, Vincent A L, Tuggle C K, et al. A mutation in the prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs [J]. Animal Genetics, 1998, 29 (1): 69.

(下转第 208 页)

组成以及端粒酶活性有助于了解寄生虫基因表达和变异、细胞周期调节和基因重组等机制。同时,分离和鉴定寄生虫端粒酶相关蛋白、寻找或设计针对该蛋白的药物或疫苗为寄生虫病的预防和治疗开辟了新思路。

在对一种生物进行端粒研究时,必须确定其端粒的 DNA 重复序列。人们通过与已知的端粒序列杂交,已经搞清大量的端粒序列。确定端粒位点的经典方法是检测其对外切核酸酶 BAL31 的敏感性,该酶可以从外向内消化降解染色体末端的 DNA,用外切核酸酶 BAL31 处理染色体 DNA,切除的第一部分就是端粒序列。本试验根据前期克隆获得的 *E. tenella* 端粒 DNA 重复序列设计的寡聚核苷酸探针(TTTAGGG)<sub>4</sub>与 *E. tenella* 基因组 DNA 杂交产生了明显的杂交条带,从而确定 5'-TTTAGGG-3' 是 *E. tenella* 端粒重复序列,并且 *E. tenella* 基因组 DNA 序列对核酸外切酶 BAL31 敏感,随着该酶对基因组 DNA 消化时间的延长,杂交信号逐渐减弱直至消失,证明此串联重

复序列位于 *E. tenella* 染色体末端。本试验确定了 *E. tenella* 端粒 DNA 重复序列,为进行 *E. tenella* 不同发育阶段虫体端粒酶活性检测奠定了基础,也为将来针对端粒结合蛋白设计新型药物用以预防和治疗球虫病开辟了新的途径。

#### 参考文献:

- [1] Williams, R B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry [J]. International Journal for Parasitology, 1999, 29(8): 1209-1229.
- [2] 丛羽生. 人端粒酶活性的调控机制及其新功能研究进展 [J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 422-426.
- [3] 蒋建林, 蒋金书. 柔嫩艾美耳球虫各阶段纯化的改进 [J]. 中国农业大学学报, 1996, 1(5): 99-102.
- [4] 张志敏, 于林, 余翟. 两种方法提取柔嫩艾美耳球虫孢子化卵囊基因组 DNA 的对比试验 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(5): 9-11.
- [5] 朱华晨, 许新萍, 李宝健. 一种简捷的 Southern 印迹杂交方法 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2004, 43(4): 128-130.
- [6] Blackburn E H, Challoner P B. Identification of a telomeric DNA sequence in *Trypanosoma brucei* [J]. Cell, 1984, 36(2): 447-457.
- [7] Podlevsky J D, Bley C J, Omana R V, et al. The Telomerase Database [J]. Nucleic Acids Research, 2008, 36: 339-343.
- [8] McDougall E I. Studies on ruminant saliva I. the composition and output of sheep's saliva [J]. Biochem J, 1948, 43(1): 99-109.
- [9] Muck R E, Pitt R E, Lebensperger R Y. A model of aerobic fungal growth in silage: I. Microbial characteristics [J]. Grass and Forage Science, 1991, 46: 283-299.
- [10] Kung J, Martin R S, Lin C J. Silage additives [M]. Madison: ASA Inc, 2003: 305.
- [11] 李晓霞, 王宗礼, 孙启忠. 生物添加剂对甜菜和玉米秸混贮品质的影响 [J]. 中国农业科技导报, 2008, 10: 103-106.
- [12] Buxton D R, Muck R E, Harrison J H. Silage Science and Technology [M]. Madison: American Society of Agronomy, 2003.
- [13] 孔凡德. 高水分黑麦草添加吸收剂或凋萎青贮对青贮发酵品质和营养价值的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2002.
- [14] Rooke J A, Hatfield R D. Biochemistry of ensiling [C] // Buxton D R, Muck R E, Harrison J H. Silage science and technology. Madison: ASA Inc, 2003: 95-140.
- [15] Omandy C J, Camus A, Barra J. Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse [J]. Genes and Development, 1997 (11): 167-178.
- [16] Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Hum Genet, 1980, 32: 314-331.
- [17] Linville R C, Pomp D, Johnson R K, et al. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine [J]. J Anim Sci, 2001, 79: 60-67.
- [18] Sasanakul W, Chuansunui A, Rungkhum S, et al. DNA extraction and amplification of 10 day, room temperature blood samples [J]. J Med Assoc Thai, 1999, 82 (1): S186-189.
- [19] Visvikis S, Schlenck A, Maurice M. DNA extraction and stability for epidemiological studies [J]. Clin Chem Lab Med, 1998, 36(8):

(上接第 190 页)

- [7] 杨胜. 饲料分析及饲料质量检测技术 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1999: 16-27, 34-36.
- [8] Goering H K, Van Soest P J. Forage fiber analysis [M]. Washington: Department of Agriculture Handbook, 1970: 379-385.
- [9] Owens V N, Albrecht K A, Muck R E, et al. Protein degradation and fermentation characteristics of red clover and alfalfa silage harvested with varying levels of total nonstructural carbohydrates [J]. Crop Science, 1999, 39: 1873-1880.
- [10] 许庆方, 玉柱, 韩建国, 等. 高效液相色谱法测定紫花苜蓿青贮中的有机酸 [J]. 草原与草坪, 2007, 2: 63-67.
- [11] Broderick G A, Kang J H. Automated simultaneous determination of ammonia and amino acids in ruminant fluid and in vitro media [J]. J Dairy Sci, 1980, 33: 64-75.
- [12] 张子仪. 中国饲料学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] Tilly J M A, Terry R A. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops [J]. J Br Grassl Soc, 1963, 18: 104-111.

(上接第 199 页)

- [3] Omandy C J, Camus A, Barra J. Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse [J]. Genes and Development, 1997 (11): 167-178.
- [4] Botstein D, White R L, Skolnick M, Davis R W. Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. Hum Genet, 1980, 32: 314-331.
- [5] Linville R C, Pomp D, Johnson R K, et al. Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine [J]. J Anim Sci, 2001, 79: 60-67.
- [6] Sasanakul W, Chuansunui A, Rungkhum S, et al. DNA extraction and amplification of 10 day, room temperature blood samples [J]. J Med Assoc Thai, 1999, 82 (1): S186-189.
- [7] Visvikis S, Schlenck A, Maurice M. DNA extraction and stability for epidemiological studies [J]. Clin Chem Lab Med, 1998, 36(8):

- 551-555.
- [8] Diaz Cano S J, Brady S P. DNA extraction from formalin fixed, paraffin embedded tissues: protein digestion as a limiting step for retrieval of high quality DNA [J]. Diagn Mol Pathol, 1997, 6(6): 342-346.
- [9] 张佳兰, 咎林森, 申光磊. 牛催乳素受体 (PRLR) 基因 *Hinf* I 多态性与奶牛生产性能相关性研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(9): 888-892.
- [10] 牟玉莲, 孙少华, 储明星. 催乳素受体基因的研究进展 [J]. 遗传, 2002, 24(3): 363-366.
- [11] 崔建勋, 杜红丽, 张细权. 催乳素受体基因序列多态及生物信息学分析 [J]. 遗传, 2005, 27(2): 208-214.
- [12] 吴昕彦, 张庆华, 陈竺. 单核苷酸多态性研究及应用 [J]. 中华遗传学杂志, 2000, 17(1): 57-60.