

CSN1S2 和 CSN3 基因表达量与西农萨能奶山羊 产奶性状的关系

李 玲, 李 广, 安小鹏, 王娅娜, 韩 丹, 朱广琴, 宋宇轩,
崔易虹, 陈秋菊, 侯金星, 曹斌云

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】**研究酪蛋白中 α_2 酪蛋白 (CSN1S2) 基因和 K 酪蛋白 (CSN3) 基因在西农萨能奶山羊乳腺组织中的表达量及其与产奶性状的关系。**【方法】**根据山羊 CSN1S2 和 CSN3 的 mRNA 序列 (CSN1S2: AJ289716, CSN3: EF564258) 设计实时定量特异性引物, 采用实时荧光定量 PCR 法, 对年均产奶量不同的 3 组西农萨能奶山羊进行 mRNA 转录水平上的相对定量分析, 并测定乳脂和乳蛋白的含量, 同时对扩增出的 mRNA 片段进行克隆测序。**【结果】**CSN1S2 基因在第 1 组 15 只西农萨能奶山羊 (年均产奶量为 $(1\ 100.00 \pm 15.00)$ kg) 乳腺组织中的相对表达量是第 2 组 15 只奶山羊 (年均产奶量为 (600.00 ± 12.00) kg) 的 2.47 倍, 二者差异极显著 ($P < 0.01$); CSN3 基因在第 1 组西农萨能奶山羊乳腺组织中的表达量是第 2 组的 3.10 倍, 二者差异极显著 ($P < 0.01$); 测序后进行序列比对发现, 目的 mRNA 片段与山羊 CSN1S2 和 CSN3 基因的同源性均为 100%; CSN1S2 基因在西农萨能奶山羊乳腺组织中的表达量与乳汁中蛋白质含量相关性不显著, 与脂肪含量呈显著负相关; CSN3 基因的表达量与乳汁中蛋白质含量呈显著正相关, 与脂肪含量相关性不显著。**【结论】**CSN1S2 基因和 CSN3 基因在西农萨能奶山羊乳腺中的表达量对乳蛋白和产奶量有显著影响 ($P < 0.05$), 可作为西农萨能奶山羊产奶性状选育的候选基因。

【关键词】 西农萨能奶山羊; CSN1S2; CSN3; 实时定量 PCR; 基因表达; 产奶量

【中图分类号】 S827.9⁺40.1

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2010)01-0035-06

Correlation between the expressions of CSN1S2 and CSN3 gene and milk production in mammary gland of Xinong Saanen Dairy Goat

LI Ling, LI Guang, AN Xiao-peng, WANG Ya-na, HAN Dan, ZHU Guang-qin,
SONG Yu-xuan, CUI Yi-hong, CHEN Qiu-ju, HOU Jin-xing, CAO Bin-yun

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The relationship between the milk production traits and the expression levels of CSN1S2 gene and CSN3 gene in the breast gland of Xinong Saanen Dairy Goat was detected in this study. **【Method】** Two pairs of Real-time quantitative specific primers were designed based on the mRNA sequence of CSN1S2 (AJ289716) gene and CSN3 (EF564258) gene, and SYBR Green reaction system of real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the relative quantitative analysis on mRNA transcription level of CSN1S2 gene and CSN3 gene in Xinong Saanen Dairy Goat. The amplified DNA segments were cloned and sequenced. Meanwhile the milk fat and lactoprotein was detected using fast milk composition analysis instrument. **【Result】** The results showed that the relative average expression of CSN1S2 gene in

* [收稿日期] 2009-05-11

[基金项目] 国家“863”高新技术研究与发展计划项目(2007AA10Z167); 国家“十一五”奶业重大科技支撑项目(2006BAD04A11)

[作者简介] 李 玲(1982—), 女, 陕西户县人, 在读硕士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

[通信作者] 曹斌云(1955—), 男, 陕西周至人, 教授, 博士生导师, 主要从事动物生殖生理调控研究。

E-mail: caobinyun@yahoo.com.cn

the first group including 15 goats whose milk production of one lactation period was $(1\ 100.00 \pm 15.00)$ kg was 2.47 folds higher than that of the second group, (600.00 ± 12.00) kg, while the relative average expression of CSN3 gene in the first group was 3.10 folds higher than that of the second group. When blasted the sequenced DNA, it showed that the amplified DNA segments shared 100% homology with the target segments. The expression of CSN1S2 gene in goat mammary gland was positively correlated ($P > 0.05$) with protein content, and negatively correlated ($P < 0.05$) with fat content in goat milk. The expression of CSN3 gene was positively correlated with protein content ($P < 0.05$). **【Conclusion】** The expression of CSN1S2 gene and CSN3 gene in Xinong Saanen Dairy Goat mammary gland has a significant influence ($P < 0.05$) on milk production, milk protein and milk fat, and can be used as breeding dairy goat milk production traits of the candidate genes.

Key words: Xinong Saanen Dairy Goat; CSN1S2; CSN3; real-time quantitative PCR; gene expression; milk yield

产奶性状的选育是奶山羊育种的重要目标之一。乳成分包括乳蛋白、乳脂和乳糖等,其中蛋白可以分为酪蛋白和乳清蛋白两大类^[1]。酪蛋白包括 α s1 酪蛋白(CSN1S1)、 α s2 酪蛋白(CSN1S2)、 β 酪蛋白(CSN2)和 K 酪蛋白(CSN3)^[2],这 4 种酪蛋白基因已定位于牛的 6 号染色体,4 个基因紧密连锁,总长度不足 200 kb^[3]。尽管基因的核苷酸顺序有很大不同,但 4 种酪蛋白的基因具有同源性^[4]。各基因位点的等位基因间差异不大,只在个别位点发生了碱基的插入、替换或缺失,这些突变引起乳蛋白氨基酸序列改变,进而导致呈现蛋白多态性^[5]。CSN1S2 和 CSN3 基因是酪蛋白基因家族中的重要成员^[6],Shekar 等^[7]为了研究 K 酪蛋白在泌乳期的作用,在裸鼠上敲除了 K 酪蛋白基因,结果发现,K 酪蛋白基因缺失虽未影响其他酪蛋白的表达,但这些母鼠却均失去了哺乳能力。由此可见,K 酪蛋白在哺乳动物的泌乳过程中是必不可少的。有研究表明,CSN1S2 基因与钙溶解作用、产乳量、乳脂率、乳蛋白量等显著相关;CSN3 基因与奶牛产奶量、乳脂率和乳蛋白量显著相关^[8]。目前,国内对酪蛋白基因的研究多集中在荷斯坦奶牛上^[2],而对奶山羊酪蛋白基因的研究较少,且多集中在 DNA 水平^[8],尚未见从转录水平对奶山羊酪蛋白基因表达进行研究的报道。本研究利用实时荧光定量技术,探讨西农萨能奶山羊乳腺组织中酪蛋白基因的表达量与产奶量、乳蛋白含量和乳脂率的关系,以期对奶山羊的育种实践提供理论依据和技术手段。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 分组与采样 试验选用相同饲养管理条件

下、体质接近、体况良好的 40 只 3 周岁西农萨能奶山羊,将其分为 3 组。第 1 组 15 只西农萨能奶山羊的第 2 胎泌乳量为年均 $(1\ 100.00 \pm 15.00)$ kg;第 2 组 15 只西农萨能奶山羊的第 2 胎泌乳量为年均 (600.00 ± 12.00) kg;第 3 组的 10 只西农萨能奶山羊为对照组,其第 2 胎泌乳量为年均 (500.00 ± 14.00) kg。手术法采集各组奶山羊第 3 胎次泌乳中期同侧、相同部位和深度的乳腺小叶组织 10 g 左右,用锡箔纸包裹后装入纱布袋,迅速投入液氮中保存备用。同时采集第 1 组和第 2 组西农萨能奶山羊泌乳中期的乳样,并于采样当天用快速乳成分分析仪(6400A 型)测定奶样的乳脂和乳蛋白含量。

1.1.2 主要试剂 Trizol 试剂,购自美国 Invitrogen 公司;反转录试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司;pMD19-T Vector 质粒载体,购自日本 TaKaLa 公司;其他化学试剂均为分析纯。

1.1.3 主要仪器 7500 Real-Time PCR System,日本 TaKaLa 公司;紫外分光光度计,博日科技有限公司;GeneAmp PCR System 9600, Bio-RAD Power/PAC 电泳仪,台式高速冷冻离心机,北京六一仪器厂;快速乳成分分析仪(6400A 型),北京东方圣隆达科贸有限公司。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 根据 CSN1S2(GenBank 登录号:AJ289716)、CSN3(GenBank 登录号:EF564258)和 β 肌动蛋白基因(β actin, GenBank 登录号:AF481159)的序列,按照实时荧光定量 PCR(PT-PCR)引物设计原则,用 Primer 5.0 软件设计引物,见表 1。

1.2.2 西农萨能奶山羊乳腺组织总 RNA 的提取与纯化 采用 Trizol 试剂,一步法提取西农萨能奶

山羊乳腺组织总 RNA。于研钵中加入液氮预冷;取西农萨能奶山羊乳腺组织加液氮进行研磨,取 50~100 mg 组织粉末加入已盛有 1 mL Trizol 液的 EP 管中,混合后室温放置 2~5 min,4 °C 下 12 000 r/min 离心 10 min;取上层水相倒入新的 EP 管中,加入 200 μ L 氯仿,剧烈振荡 15 s,15~30 °C 放置 2~3 min,然后离心 15 min;再移上清液至一新的

EP 管中,加入 500 μ L 异丙醇,室温放置 10~15 min,离心 10 min(离心后管壁或管底见胶状沉淀);弃上清,加 1 mL 体积分数 75% 乙醇洗涤 RNA,涡旋混匀,4 °C 下 7 500 r/min 离心 5 min;再弃乙醇,并用移液器将残余液体尽量除去,将液滴吸干,室温干燥 5~10 min,加 30 μ L 体积分数 0.1% 的 DEPC 水,吸吹打几次促进溶解,保存于 -80 °C 冰箱中。

表 1 CSN1S2、CSN3、 β -actin 的实时荧光定量 RT-PCR 引物

Table 1 Primers of quantitative RT-PCR of CSN1S2, CSN3, β -actin

基因名称 Gene	引物序列(5'→3') Primer sequence	退火温度/°C Temperature	片段长度/bp Length
CSN1S2	F:GTAAGGAACGCAAATGAAGAGGA R:CATTCAGGGCTTTCTGGTAGTG	61.77	121
CSN3	F:ACCTACCACCGAAGCAATAGTGAA R:CCAAAGCCAACCGTGAGAA	63.14	144
β -actin	F:CCAAAGCCAACCGTGAGAA R:AGAGGCGTACAGGGACAGCA	62.73	101

1.2.3 cDNA 的合成 取 2~5 μ g 西农萨能奶山羊乳腺组织总 RNA 样品,加入 2 μ g/ μ L Oligo (dT)₁₈ 和 dNTP 各 2 μ L, RNase-free ddH₂O 补足 13.5 μ L,70 °C 下加热 5 min 后迅速在冰上冷却 2 min。收集离心反应液后加入以下组分:4 μ L 5 \times First-Strand Buffer,1 μ L 0.1 mol/L DTT,0.5 μ L Rnasin,1 μ L(200 U/ μ L)TIANScript M-MLV。轻轻用移液器混匀,将离心管置 25 °C 温浴 10 min,再 42 °C 温浴 50 min,95 °C 加热 5 min 终止反应,置冰上进行后续试验或冷冻保存。用 RNase-free ddH₂O 将反应体系稀释到 50 μ L,取 2~5 μ L 进行 PCR 扩增反应。

1.2.4 总 mRNA 的常规 PCR 检测 用普通 PCR 分析引物的特异性及大致的表达量。反应体系为:mRNA 反转录产物 2 μ L, Taq DNA 聚合酶(2 U/ μ L)1.0 μ L,10 \times PCR Buffer 1.5 μ L,dNTP 2 μ L,上、下游引物各 0.5 μ L,加 ddH₂O 至 12 μ L。PCR 反应条件为:95 °C 预变性 5 min;94 °C 变性 30 s,61 °C 退火 30 s(CSN1S2)或 63 °C 退火 30 s(CSN3),72 °C 延伸 1 min,33 个循环。

1.2.5 CSN1S2 和 CSN3 表达水平的实时荧光定量 PCR 检测 应用 7500 Real-Time 荧光定量 PCR 仪,采用两步法扩增程序进行基因表达分析。第 1 组和第 2 组样品使用了 15 个生物学重复(即样品来自 15 个不同乳腺的组织),第 3 组使用了 10 个生物学重复,每个生物学样品均至少进行 3 次重复测定。CSN1S2、CSN3、 β -actin 的实时定量反应体系为:SYBR Premix Ex TaqTM(2 \times)25 μ L,上游引物 1 μ L,下游引物 1 μ L,ROX Reference Dye II(50 \times)1 μ L,cDNA 4 μ L,加 ddH₂O 至 50 μ L。PCR 反应程

序为:95 °C 变性 10 s,94 °C 变性 5 s,60 °C 退火 34 s,72 °C 延伸 15 s,40 个循环,各重复 3 次。在每一个循环的退火阶段收集荧光定量产物进行实时检测,反应结束后得到含所有样品记录点的曲线。样品 mRNA 表达水平以目的基因与内参基因的相对比值来表示。

1.2.6 克隆与测序 将纯化回收的 PCR 扩增产物与 pMD19-T Vector 质粒载体连接,转化大肠杆菌 DH5 α 受体菌,涂布到含有 50 mg/mL Amp 的 LB 平板培养基上培养过夜,待第 2 天长出菌落后进行阳性克隆筛选。从每个 PCR 产物的克隆培养平板上挑 6 个菌落,在 LB 液体培养基中培养,摇菌 5 h 左右,待培养基中出现云雾状后,各菌落培养物取 1.0 μ L 进行 PCR 鉴定,PCR 扩增条件与 1.2.4 节中相同。经鉴定正确的阳性克隆送至上海生物技术有限公司,用 M13 上下游通用引物进行测序,测序结果用 DNASTAR 软件去除载体序列后进一步分析,以确定克隆序列的正确性。

1.3 数据分析

利用内参基因对所有样品目的基因的表达量进行归一化处理(RNA 量校正)后,再对目的基因在不同样品之间的表达量进行比较。校正方法:校正值=目的基因的定量/内参基因的定量。同时,为了使样品之间目的基因的表达量更容易比较,定义 CSN1S2 基因和 CSN3 基因在对照组西农萨能奶山羊乳腺组织中的平均表达水平为 1,然后计算目的基因在第 1 组和第 2 组奶山羊乳腺组织中的相对表达水平。用 SPSS13 软件对试验数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 西农萨能奶山羊乳腺组织 RNA 的纯度与完整性

将提取的西农萨能奶山羊乳腺组织总 RNA 进

行电泳,按照相同的量分别将 31 个个体的总 RNA 混合,经紫外分光光度计分析,所有样本的 OD_{260}/OD_{280} 均在 1.8~2.0。由图 1 可见,28 S 和 18 S 条带清晰可见,无明显降解,表明 RNA 质量符合实时定量 PCR 试验的要求。

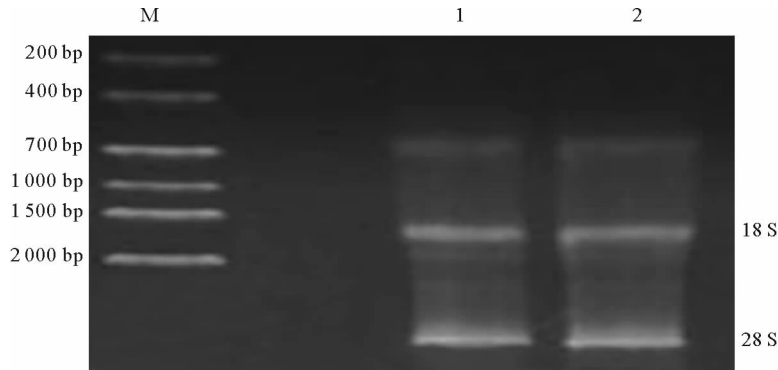


图 1 西农萨能奶山羊乳腺组织总 RNA 的电泳结果

M. DL2000 Marker;1~2. 乳腺 RNA

Fig.1 Total RNA of Xinong Saanen Dairy Goat in mammary gland

M. DL2000 Marker;1-2. Mammary RNA

2.2 CSN1S2 和 CSN3 的实时荧光定量 PCR 检测结果

2.2.1 扩增曲线 由图 2 可见,荧光定量动力学曲线基线平整,无引物二聚体等引起的杂峰;指数区较明显,斜率大且固定,线性范围广,表明实时荧光定

量 PCR 检测 CSN1S2、CSN3 具有较好的敏感性。

2.2.2 溶解曲线 由图 3 可见,扩增产物特异性很好,表明荧光曲线能够准确反映目的产物扩增结果的变化。

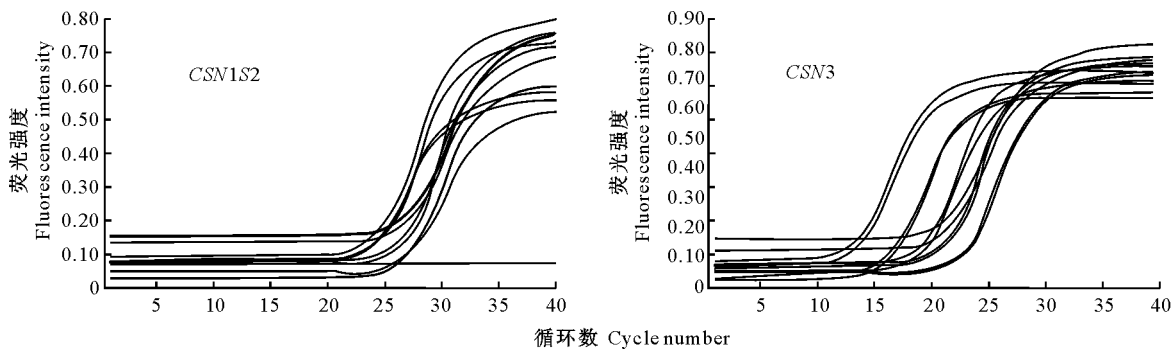


图 2 CSN1S2 基因和 CSN3 基因的扩增曲线

Fig.2 Amplification curve of CSN1S2 and CSN3 genes

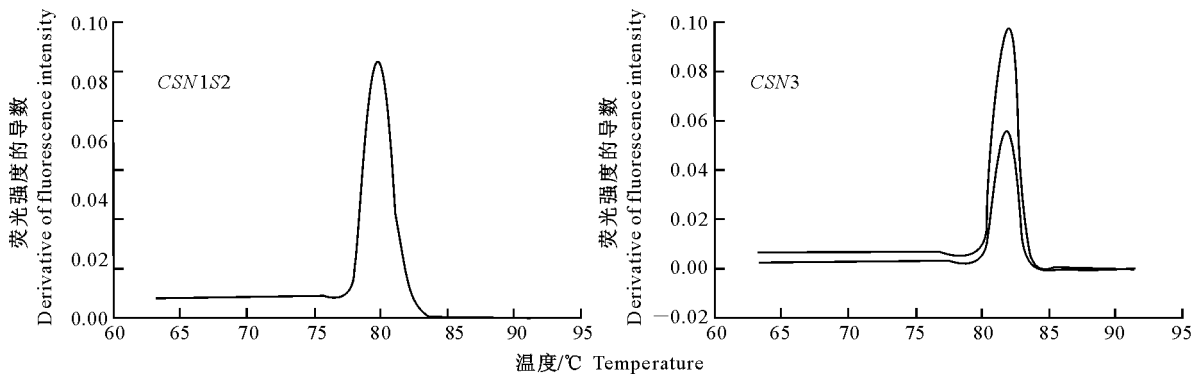


图 3 CSN1S2 基因和 CSN3 基因的溶解曲线

Fig.3 Melt curve peak chart of CSN1S2 and CSN3 genes

2.2.3 实时荧光定量 PCR 结果 由表 2 可见,第 1 个基因的 mRNA 表达丰度均高于第 2 组,较第 2 组组西农萨能奶山羊乳腺组织中 CSN1S2 和 CSN3 2 分别提高了 2.47 和 3.10 倍。

表 2 西农萨能奶山羊 CSN1S2 和 CSN3 基因的 mRNA 实时荧光定量 PCR 结果

Table 2 Quantitative PCR results of CSN1S2 and CSN3 genes of Xinong Saanen Dairy Goat

基因 Gene	第 1 组 Ct 值 Ct value in first group	第 2 组 Ct 值 Ct value in second group	第 1 组 $2^{-\Delta Ct}$ 值 $2^{-\Delta Ct}$ value in first group	第 2 组 $2^{-\Delta Ct}$ 值 $2^{-\Delta Ct}$ value in second group	增加倍数 Increased folds
CSN1S2	18.31±0.04	17.88±0.15	3.65	1.51	2.47
CSN3	15.47±0.23	16.31±0.07	4.47	1.44	3.10
<i>βactin</i>	23.72±0.08	25.25±0.21			

注: Ct, 临界循环数; $2^{-\Delta Ct}$ 值, 基因盛期比初期 mRNA 表达丰度的增加倍数。

Note: Ct, Threshold cycle; $2^{-\Delta Ct}$ value. The increased folds of genes mRNA expression from first group to second group.

2.3 CSN1S2 和 CSN3 基因的表达量与产奶性状的相关性

由表 3 可知,第 1 组西农萨能奶山羊乳汁中蛋白质含量是第 2 组的 1.05 倍,二者差异显著($P < 0.05$);第 2 组西农萨能奶山羊乳汁中脂肪含量是第 1 组的 1.18 倍,二者差异不显著($P > 0.05$)。

由相关分析结果可知,CSN1S2 基因的表达量与脂肪含量呈显著负相关,相关系数为 0.823,回归方程为: $y = -41.621x + 524.056$;但与蛋白质含量的相关性不显著。CSN3 基因的表达量与蛋白质含量呈显著正相关,相关系数为 0.807,回归方程为: $y = 458.076x - 125.014$;但与脂肪含量的相关性不显著。

表 3 山羊乳汁中蛋白质和脂肪的质量分数

Table 3 Mass percentage of protein and fat in goat milk %

项目 Items	第 1 组 Group 1	第 2 组 Group 2
蛋白质 Protein	2.70±0.04 a	2.56±0.05 b
脂肪 Fat	2.44±0.26 a	2.88±0.26 a

注:同一行数据后标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Values with different capital letters in the same row mean different significantly at 0.05 levels.

2.4 CSN1S2 和 CSN3 的基因序列及同源性分析

利用 NCBI 中的 BLAST 软件,将克隆得到的 CSN1S2 和 CSN3 基因序列分别与 Genbank 中山羊的对应基因序列进行同源性比对,结果同源性均为 100%。CSN1S2 和 CSN3 的基因序列见图 4,片段长度分别为 121 和 144 bp。

```
GTAAGGAACGCAAATGAAGAGGAATATTCTATCAGATCATCTAGTGAGG
AATCTGCTGAAGTTGCCCCAGAGGAAATTAAGATTACTGTGGACGATAA
GCACTACCAGAAAAGCCCTGAATG
```

CSN1S2

```
ACCTACCACCGAAGCAATAGTGAACACTGTAGATAATCCAGAAGCTTCCTC
AGAATCGATTGCGAGTGCATCTGAGACCAACACAGCCCAAGTTACTTCAA
CCGAGGTCTAAAAACTCTAAGGAGACATCAAAGAAGACAACGC
```

CSN3

图 4 西农萨能奶山羊 CSN1S2 和 CSN3 基因的测序结果

Fig. 4 Nucleotide sequence of CSN1S2 gene and CSN3 gene clones sequencing of Xinong Saanen Dairy Goat

3 讨 论

张丽娟等^[9]对奶山羊与牛乳腺差异表达基因进行筛选,并进行了半定量 RT-PCR 分析,利用抑制消减杂交技术,对 3 只西农萨能奶山羊和 3 头荷斯坦奶牛泌乳末期的乳腺组织差异表达基因进行分析,发现 4 种酪蛋白基因的 mRNA 含量与牛奶和羊奶中乳蛋白含量之间存在很大差异,其中 K 酪蛋白 mRNA 含量与乳中蛋白含量差异很大,这与本研究结果不同,可能是由于本研究与张丽娟等^[9]所用的样本量不同造成的。现已确定山羊 CSN1S2 基因最少有 8 个等位基因,并发现其含量与羊奶的过敏

特性有关,测定蛋白后发现变体 A、B、C、E 和 F 比其他变体表现出更高的致敏能力^[10]。蓝贤勇等^[11]对 CSN1S2 基因的多态性与产奶性能的相关性分析表明,NN 型平均产奶量显著($P < 0.05$)高于 FF 型,并初步证实了 Ramunno 等^[12]关于 CSN1S2 基因座上的 F 等位基因可能与高产奶量呈负相关的推断。目前对奶山羊和奶牛在基因组水平上的大量研究表明,CSN3 基因存在等位基因多态现象^[4-13]。Moioli 等^[14]对影响绵羊和山羊奶品质的候选基因进行研究,并对酪蛋白的多态性进行检测,发现除 CSN1S1 基因外,其他酪蛋白基因对乳蛋白含量、酪蛋白含量和产奶量均有显著影响,这与本研究结果

中 CSN3 基因表达量与蛋白质含量呈正相关这一结果相同。Caravaca 等^[15]就 K 酪蛋白的多态性对产奶量和脂肪、酪蛋白、乳糖含量的影响进行了研究,证实 CSN3 基因 BB 型具有较高的产奶量和酪蛋白含量。

本研究对 CSN1S2 基因和 CSN3 基因进行了实时定量研究,并结合测序结果及乳成分分析结果可知,产奶量较高的第 1 组西农萨能奶山羊乳腺组织中 CSN1S2 基因和 CSN3 基因的 mRNA 表达丰度均高于产奶量较低的第 2 组西农萨能奶山羊,较第 2 组奶山羊分别提高了 2.47 和 3.10 倍;在乳成分中,第 1 组奶山羊乳汁中蛋白质质量分数平均为 2.70%,第 2 组奶山羊平均为 2.56%,二者差异显著 ($P < 0.05$);脂肪质量分数则以第 2 组奶山羊较高,第 2 组和第 1 组平均分别为 2.88% 和 2.44%,但二者差异不显著 ($P > 0.05$)。由此说明,在泌乳中期,CSN1S2 基因和 CSN3 基因表达量高的西农萨能奶山羊产奶量较高,浮汁中蛋白质含量较高而脂肪含量较低;CSN1S2 基因和 CSN3 基因表达量低的西农萨能奶山羊产奶量较低,浮汁中蛋白质含量较低而脂肪含量较高。

4 结 论

CSN1S2 基因和 CSN3 基因在西农萨能奶山羊乳腺中的表达量对乳蛋白和产奶量有显著影响 ($P < 0.05$),可作为奶山羊产奶性状选育的候选基因,对进一步开展奶山羊分子育种具有一定的理论和实践参考价值。

[参考文献]

- [1] Swaisgood H E. Protein and amino acid composition of bovine milk [J]. Handbook of Milk Composition, 1995, 45(2): 464-472.
- [2] 付小波, 曾林森, 张佳兰. 中国荷斯坦奶牛 CSN1S2 基因第二外显子 SSCP 多态性与产奶性状的关系 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(8): 21-26.
Fu X B, Zan L S, Zhang J L. Study on the CSN1S2 gene's exon2 of the China Holstein by PCR-SSCP [J]. Northwest A&F University, Natural Science Edition, 2006, 34(8): 21-26. (in Chinese)
- [3] Szilvia K, Sándor K, András J, et al. Genetic polymorphism of α s1- and α s2 caseins in Hungarian Milking Goats [J]. Small Ruminant Research, 2007, 68: 329-332.
- [4] Ferretti L, Leone P, Sgaramella V. Long range restriction analysis of the bovine casein genes [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(23): 6829-6833.
- [5] David W, Threadgil, James E. Genomic analysis of the major bovine milk protein genes [J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(23): 6935-6942.
- [6] Raynal-Ljutovaca K, Lagriffoulb G, Paccardb P, et al. Composition of goat and sheep milk products; an update [J]. Small Ruminant Research, 2008, 79: 57-72.
- [7] Shekar P C, Goel S, Rani S D S, et al. kappa-Casein-deficient mice fail to lactate [J]. Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America, 2008, 103(21): 8000-8005.
- [8] 陈宏, 蓝贤勇, 李瑞彪, 等. CSN1S2、CSN3、 β -lg 基因对西农萨能奶山羊产奶性能的影响 [J]. 遗传学报, 2005, 32(8): 804-810.
Chen H, Lan X Y, Li R B, et al. The effect of CSN1S2, CSN3 and β -lg genes on milk performance in Xinong Saanen Dairy Goat [J]. Acta Genetica Sinica, 2005, 32(8): 804-810. (in Chinese)
- [9] 张丽娟, 罗军, 武会娟, 等. 山羊与牛乳腺差异表达基因的筛选及半定量 RT-PCR 分析 [J]. 动物学报, 2007, 53(4): 710-716.
Zhang L J, Luo J, Wu H J, et al. Screening and semi-quantitative RT-PCR analysis of differentially expressed genes in mammary glands between goat and cow [J]. Acta Zoologica Sinica, 2007, 53(4): 710-716. (in Chinese)
- [10] Sacchi P, Chessa S, Budelli E, et al. Casein haplotype structure in five Italian goat breeds [J]. Journal Dairy Science, 2005, 88(4): 1561-1568.
- [11] 蓝贤勇, 陈宏, 张润锋, 等. 西农萨能奶山羊 CSN1S2 基因多态性与产奶量、体尺指标的相关分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2005, 36(4): 318-322.
Lan X Y, Chen H, Zhang R F, et al. Association of polymorphisms of CSN1S2 gene with average milk yield and body sizes indexes in Xinong Saanen Dairy Goat [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2005, 36(4): 318-322. (in Chinese)
- [12] Ramunno L, Cosenza G, Pappalardo M, et al. Characterization of two new alleles at the goat CSN1S2 locus [J]. Animal Genetics, 2001, 32(1): 19-26.
- [13] Caroli A M, Chessa S, Rignanese D, et al. Caprine and ovine caseins: genetic variability and effects on milk quality [J]. Scienzae Tecnica Lattiero-Casearia, 2008, 59(3): 163-173.
- [14] Moioli B, Pilla F, Tripaldi C. Detection of milk protein genetic polymorphisms in order to improve dairy traits in sheep and goats; a review [J]. Small Ruminant Research, 1998, 27(8): 185-195.
- [15] Caravaca F, Carrizosa J, Urrutia B, et al. Effect of alpha(S1)-casein (CSN1S1) and kappa-casein (CSN3) genotypes on milk composition in Murciano-Granadina goats [J]. Journal Dairy Science, 2009, 92(6): 2960-2964.