

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00463

## CXCR2 基因多态性与奶牛乳房炎和乳品质的关联

徐敏, 平富强, 陈仕毅, 赖松家, 刘益平

四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014

**摘要:** 采用 PCR-SSCP 技术研究了荷斯坦牛、西门塔尔牛和通江黄牛 3 个品种共 160 头个体 *CXCR2* 基因多态性与乳房炎抗性性状和对牛奶品质性状的遗传效应。结果表明: *CXCR2* 基因有 3 个 SNP 多态位点, 分别位于序列的第 685 bp、777 bp 和 861 bp 位点, 确定了 5 个等位基因 A、B、C、E 和 F。685 bp 位点表现为 BC 和 CC 基因型, 777 bp 位点表现为 AA 和 AB 基因型, 861 bp 位点为 CC 和 BC 基因型。与奶牛乳房炎敏感性有关的基因型主要是 BC、CC 和 FF, 可能对乳房炎有抗性的是 AA、AB 和 EE 基因型。据不同基因型对乳品质的遗传效应分析来看, AA、AB 和 EE 基因型的乳品质性状极显著或显著优于其他基因型。

**关键词:** *CXCR2* 基因; 多态性; 奶牛乳房炎; 乳品质

## Study on the relationships between polymorphisms of *CXCR2* gene and milk quality and mastitis of dairy cow

XU Min, PING Fu-Qiang, CHEN Shi-Yi, LAI Song-Jia, LIU Yi-Ping

College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

**Abstract:** PCR-SSCP was applied to analyze the polymorphisms of *CXCR2* gene and its relationships with milk quality and mastitis in 160 cattle samples including Holstein dairy cow, Simmental dairy cow and Tongjiang cattle. The results showed that there were 3 SNP loci in *CXCR2* gene, which located at 684 bp, 777 bp, 861 bp, respectively. Five alleles (A, B, C, E and F) were determined based on the 3 SNP loci. The genotypes for each locus were BC and CC, AA and AB, CC and BC at 685 bp, 777 bp and 861 bp, respectively. Results also demonstrated that genotypes BC, CC and FF were probably relevant with mastitis, but AA, BB and EE may resist the mastitis of cattle. The genotypes AA, AB and EE may have better milk quality (extremely significant difference or significant difference) than other genotypes.

**Keywords:** *CXCR2* gene; polymorphism; mastitis; milk quality

*CXCR2* 基因属于 G 蛋白偶联受体之一, 它与炎症反应媒介结合, 产生的级联信号导致细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  和颗粒酶的释放, 以促进趋化作用<sup>[1,2]</sup>。在奶牛发生乳房炎时, 体内主要参与杀灭病菌的细胞是巨噬细胞和嗜中性粒细胞, 而 *CXCR2* 作为一个重要的细胞因子调控嗜中性粒细胞向乳腺的转移<sup>[3]</sup>。已有研究表明, *CXCR2* 基因多态性与牛的临床和亚临床性乳

房炎对疾病敏感性有关<sup>[4-6]</sup>。因此, 牛 *CXCR2* 基因被认为是一个潜在的乳房炎抗性候选基因。目前, 对奶牛乳房炎抗性候选基因或遗传标记的研究主要使用候选基因法和数量性状位点定位方法来定位影响奶牛乳房炎抗病力的基因<sup>[7,8]</sup>。许多学者在 mRNA 水平对奶牛围产期及围产期前后外周血白细胞基因表达水平进行了大量研究, 至少发现了其中 25 个可

收稿日期: 2007-10-23; 修回日期: 2007-11-30

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划课题(编号: 2006BAD04A17)资助(Supported by National “115” Key Technology R & D Program (No.2006BAD04A17))

作者简介: 徐敏(1982-), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: xumim107@163.com

通讯作者: 刘益平(1970-), 男, 四川内江人, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: liuyup578@163.com

赖松家(1963-), 男, 四川金堂人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: lsj5791@263.net

能与奶牛乳房炎抗性相关的候选基因<sup>[9-15]</sup>。本试验研究了中国荷斯坦奶牛、西门塔尔牛以及本地黄牛 CXCR2 基因单核苷酸位点多态性(SNP)与奶牛乳房炎抗性性状的遗传相关性,以及对乳品质性状的影响,以期寻求分子标记用于标记辅助选择(MAS)的可能性。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

中国荷斯坦牛 99 个耳组织样和 89 个乳样(分别采自四川仁寿大业奶牛场和四川洪雅九宏奶牛场),西门塔尔牛 40 个耳组织样和 40 个乳样(采自四川洪

雅阳坪西门塔尔牛场),四川通江黄牛 21 个耳组织样(采自四川通江县),样本共计 160 份及对应牛号的乳样品。冰盒带回实验室, -80℃ 保存备用。乳样采集后立即用生物冰袋降温保存于采样箱中,并于 8 h 内送回实验室用乳品质快速测定仪进行乳品质性状测定。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 PCR 反应条件及引物信息

采用苯酚/氯仿法提取基因组 DNA。在 GenBank 中查找到 CXCR2 编码区序列共 1 054 bp, 使用 Oligo 6.0 引物设计 6 对引物(表 1)。

表 1 本实验中 PCR 所用引物信息

Table 1 The information of the primers for PCR in this study

引物 Primer	序列 Sequences (5' → 3')	位置 Location (bp)	片段大小 Fragment (bp)	复性温度 Annealing temperature (°C)
Primer 1	F: GCGGGTGTGATCTGGTTGA R: GACCAATCCGGCTGTATAAGA	63 263	221	54.8
Primer 2	F: TCCTGGGAAACTCCCTGGTG R: GGACAATGGCCAGGTAGCGG	233 474	261	59.4
Primer 3	F: ACTCCTGAAGGAAGTGAAGT R: CCAGGTCTCTCGTAGCAGACTA	414 626	233	58.5
Primer 4	F: CATATGTTTAGGCATCTGGG R: AGCACGACAGCAAAAGATGAC	537 799	282	57.5
Primer 5	F: CACGCTATTTTCAGCCCAAAT R: GACGTAGATGAGGGGGTTGAGG	753 969	238	59.8
Primer 6	F: CCGGGCCCTGGATGCCACCG R: GATGATGCTGAGGGGAAGCGAG	924 1 146	244	57.8

#### 1.2.2 SSCP 分析

3 μL PCR 产物与 0.5 μL 6×Loading buffer 混匀, 95℃ 变性 15 min 后, 立即冰浴 5 min 后点样于 10% 聚丙烯酰胺凝胶, 室温下电压 160 V 8 h, 电泳结束后进行银染显色。

#### 1.2.3 克隆测序

采用宝生物工程(大连)有限公司的胶回收试剂盒纯化 PCR 扩增产物, pMD18-T 载体连接后转化 JM109 菌株, 提取重组质粒作为测序模板送至宝生物工程(大连)有限公司进行测序。

#### 1.2.4 体细胞评分方法及奶牛乳房炎判断标准

体细胞数(SCC)是指每毫升牛奶中体细胞的数量<sup>[16]</sup>。采用血细胞计数板直接镜检法进行 SCC 的测定。采用  $SCS = \log_2(SCC/100) + 3$  公式将测得的 SCC 转化体细胞评分(SCS)。根据体细胞评分结果判定奶牛是否患乳房炎。阳型乳房炎 50(万个/mL) SCC, 15.2877 SCS; 隐性乳房炎 20(万个/mL) SCC < 50(万个/mL), 13.9658 SCS < 15.2877; 健康牛 SCC < 20(万个/mL); SCS < 13.9658。

#### 1.2.5 乳品质测定的指标及方法

乳样本采集后用冰盒贮藏于 8 h 内送回实验室用乳品质快速测定仪(浙江大学优创科技有限公司, UL40BC-11)进行乳品质测定, 测定指标包括脂肪、乳糖、密度、总蛋白、pH 值、灰分。

#### 1.2.6 数据处理

所有数据用 SAS 软件包(SAS Institute Inc, SAS 6.12, 1996)的常规线性模型并建立 DBF 数据库分析各基因座位的基因型频率和基因频率在品种间的差异。由于本实验样本为相同季节和相似年龄、胎次的的数据, 因此我们在模型建立时不考虑这些因素对乳房炎发病率及发生程度的影响。另外, 由于不同牛场所采的样本数量之间偏倚性太大, 我们也没考虑场效应。其基因型效应统计分析模型如下:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + G_j + E$$

其中:  $Y_{ij}$  为牛奶各指标的观测值;  $\mu$  为牛奶各指标的群体均值;  $A_i$  为第  $i$  个品种效应( $i = 1, 2, 3$ );  $G_j$  为第  $j$  个基因型效应( $j$  分别对应各位点基因型);  $E$  为随机效应。

运用 GLM 程序计算不同基因型奶成分及各种影响因素的最小二乘均数和标准误, 同时进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 各品种牛 *CXCR2* 等位基因频率及基因型频率

PCR-SSCP 检测结果显示, 在所检测的 160 头奶牛及黄牛个体中, *CXCR2* 基因第 4 对引物扩增的 282 bp 的片段中有两个多态位点, 3 个等位基因, 分别记为 A、B 和 C, 确定 6 种基因型: AA、AB、AC、BB、BC、CC(图 1); 第 5 对引物扩增的 238 bp 的片段中有一个多态位点, 有 3 种基因型, 基因型记为: EE、EF、FF(图 2); 第 1、2、3、6 对引物扩增片段中没有发现多态位点。

*CXCR2* 基因 Primer 4 扩增片段各基因型在各品种间分布的独立性检验结果显示, 3 个牛品种间基因

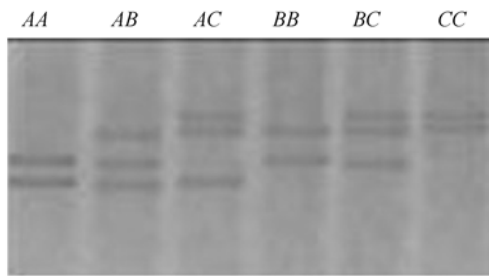


图 1 第 4 对引物 SSCP 结果  
Fig. 1 The SSCP analysis on the PCR product of Primer 4

表 2 牛 *CXCR2* 基因 Primer 4 扩增片段各基因型频率和等位基因频率

品种 Breeds	基因型频率 Genotype frequency (%)						等位基因频率 Allele frequency (%)			$\chi^2$ 值
	AA	BB	CC	AB	AC	BC	A	B	C	
Holstein	21.21 (21)	7.07 (7)	3.03 (3)	31.31 (31)	18.18 (18)	19.19 (19)	45.96	32.32	21.72	9.99 ( $P < 0.05$ )
Simmental	42.50 (17)	7.50 (3)	0.00 (0)	32.50 (13)	2.50 (1)	15.00 (6)	60.00	31.25	8.75	
Tongjiang	66.67 (14)	4.76 (1)	0.00 (0)	23.81 (5)	4.76 (1)	0.00 (0)	80.95	16.67	2.38	

注: 括号内为基因型的个体数。  
Note: The numbers in the brackets are the number of individuals that belong to the respective genotypes.

表 3 牛 *CXCR2* 基因 Primer 5 位点各基因型频率和基因频率

品种 Breeds	基因型频率 Genotype frequency (%)			等位基因频率 Allele frequency (%)		$\chi^2$ 值
	EE	EF	FF	E	F	
Holstein	41.41(41)	53.54(53)	5.05(5)	68.18	31.82	0.80 ( $P > 0.05$ )
Simmental	57.50(23)	30.00(12)	12.50(5)	72.50	27.50	
Tongjiang	33.33(7)	47.62(10)	19.05(4)	57.14	42.86	

注: 括号内为基因型的个体数。  
Note: The numbers in the brackets are the number of individuals that belong to the respective genotypes.

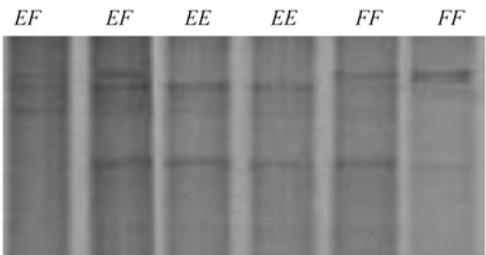


图 2 第 5 对引物 SSCP 结果  
Fig. 2 The SSCP analysis on the PCR product of Primer 5

型频率分布差异达到显著水平:  $\chi^2 = 9.99(P < 0.05)$  (表 2); 3 个品种内, A 等位基因均处于优势地位, 其频率明显高于等位基因 B 和 C。进一步比较发现: 荷斯坦牛和西门塔尔牛间 *CXCR2* 基因 Primer 4 位点 6 种基因型频率分布差异达到显著水平:  $\chi^2 = 8.45(P < 0.05)$ ; 荷斯坦牛和通江黄牛间 *CXCR2* 基因 Primer 4 位点 6 种基因型频率分布差异不显著:  $\chi^2 = 4.41(P > 0.05)$ ; 西门塔尔牛和通江黄牛间 *CXCR2* 基因 Primer 4 位点 6 种基因型频率分布达到显著水平  $\chi^2 = 10.61(P < 0.05)$ 。在所研究的样本群体中西门塔尔牛没有 CC 基因型分布。本地通江黄牛中没有 BC 型和 CC 基因型分布。

*CXCR2* 基因 Primer 5 扩增片段各基因型在各品种间分布的独立性检验结果显示, 3 个品种间基因型的分布差异不显著:  $\chi^2 = 0.80(P > 0.05)$ (表 3); 3 个品种内, E 等位基因均处于优势地位, 其频率明显高于 F 等位基因。

## 2.2 CXCR2 等位基因 SNP 位点检测

通过对 CXCR2 基因的 SSCP 分析及测序, 发现 CXCR2 基因的 685 bp、777 bp 和 861 bp 3 个位点存在 SNPs。

对引物 4 扩增产物中出现的纯合和杂合两种基因型测序, 结果发现具有多态性, 杂合型在 CXCR2 基因的 684 bp 处有 1 个 C→G 的单碱基突变(图 3a); 杂合型在 777 bp 处有 1 个 G→A 的单碱基突变(图 3b)。

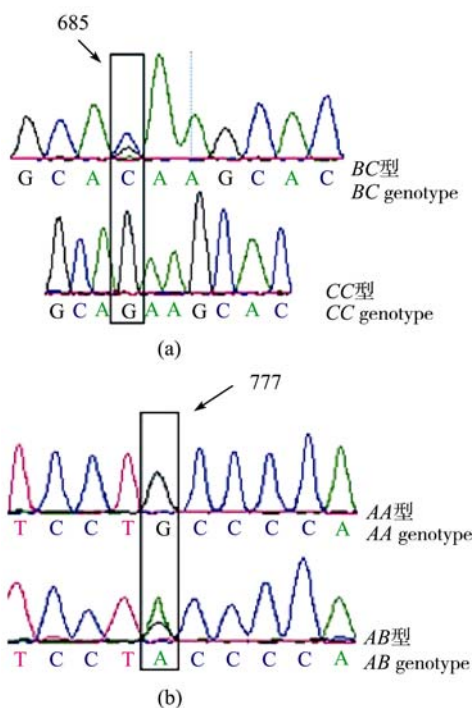


图 3 引物 4 扩增产物 685 bp 位点的 BC 和 CC 基因型(a) 和 777 bp 位点的 AA 和 AB 基因型(b)

Fig. 3 The mutation in 685 nucleotide acid between BC and CC genotype (a) and the mutation in 777 nucleotide acid between AA and AB genotype (b) by using Primer 4

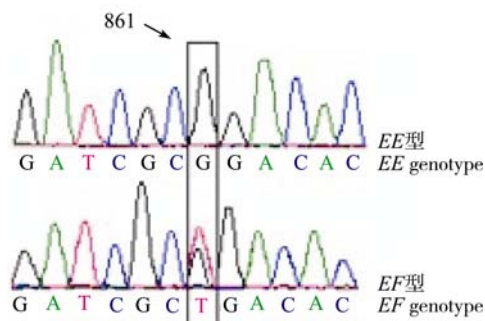


图 4 引物 5 扩增产物 861 bp 位点的 EE 和 EF 基因型  
Fig. 4 The mutation in 861 bp nucleotide acid between EE and EF genotype of Primer 5

对引物 5 扩增产物中出现的纯合和杂合两种基因型进行测序, 结果发现具有多态性, 杂合型在 CXCR2 基因的 861 bp 处有一个 G→T 的单碱基突变(图 4)。

## 2.3 CXCR2 基因不同基因型与奶牛乳房炎的关系

以中国荷斯坦牛、中国西门塔尔牛两个牛品种为研究对象, 利用 GLM 对影响奶牛 SCS 的各种因素进行方差分析(表 4, 表 5)。由表 4 可以看出, 品种效应主要来自于 1 水平, 即来自中国荷斯坦牛的效应。Primer 4 的基因型效应主要来自于 BC 型和 CC 型。由表 5 可以看出 Primer 5 的基因型效应主要来自 FF 型。

表 4 引物 4 各基因型与奶牛 SCS 间的方差分析

Table 4 The variance analysis between genotypes of Primer 4 and SCS in cattle

基因型 Genotype	AA	AB	AC	BB	BC	CC
估计值 Estimate	14.23	14.48	14.83	14.62	15.15**	15.44**
品种 Breeds	荷斯坦牛 Holstein	西门塔尔牛 Simmental	—	—	—	—
估计值 Estimate	15.09**	14.49	—	—	—	—

\*\*：差异极显著( $P < 0.01$ )。

\*\*：Means differ very significantly( $P < 0.01$ )。

表 5 引物 5 各基因型与奶牛 SCS 间的方差分析

Table 5 The variance analysis between genotypes of Primer 5 and SCS in cattle

基因型 Genotype	EE	EF	FF
估计值 Estimate	14.54	14.66	15.33**
品种 Breeds	荷斯坦牛 Holstein	西门塔尔牛 Simmental	—
估计值 Estimate	15.09**	14.49	—

\*\*：差异极显著( $P < 0.01$ )。

\*\*：Means differ very significantly( $P < 0.01$ )。

## 2.4 CXCR2 基因各引物不同基因型对乳品质的遗传效应分析

采用 SAS 统计软件, 对 Primer 4 位点各基因型对乳品质性状进行最小二乘分析和多重比较, 结果见表 6。由表 6 可以看出, CXCR2 基因该位点不同基因型对脂肪、乳糖、密度以及灰分等性状都有显著或极显著影响。AA 型个体脂肪含量最高, 除与 AB 型无显著差异外, 与其他基因型间差异均达到显著水平。AA 型及 AB 型的乳糖和密度较高,

pH 较低, 与其他基因型间差异均达到显著或极显著水平。AC 型总蛋白含量极显著高于其它基因型。各基因型的灰分差异较大, 最高含量出现在 AB 型。与其它基因型相比, AA 和 AB 基因型具有更加优良的乳品质性状。

对 Primer 5 多态位点的 3 种基因型与牛奶性状进行显著性检验和多重比较分析, 结果见表 7。这 3

种基因型对总蛋白性状差异不显著( $P > 0.05$ ), 而对其他性状都有一定影响。对于脂肪和乳糖性状而言, EE 型与 EF 型差异不显著, 而与 FF 型个体间差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。EE 型密度最高, 但仅与 FF 型的差异达到显著水平。灰分性状上 EE 型与 EF 型和 FF 型差异达到显著水平( $P < 0.05$ )。总体上看, EE 型奶牛的牛奶品质显著优于 FF 型。

表 6 CXCR2 基因 Primer 4 位点各基因型对乳品质的影响  
Table 6 The effect of different genotypes of Primer4 on quality of milk in CXCR2 gene

性状 Traits	最小二乘均数±标准误 LSM±SE					
	AA(37)	AB(39)	AC(17)	BB(9)	BC(23)	CC(3)
脂肪 Adipose(%)	3.620±0.2676 <sup>a</sup>	3.532±0.2690 <sup>a</sup>	3.461±0.3779 <sup>b</sup>	3.458±0.4626 <sup>c</sup>	3.360±0.2999 <sup>c</sup>	3.253±0.8273 <sup>d</sup>
乳糖 Lactose(%)	4.859±0.2696 <sup>a</sup>	4.857±0.2710 <sup>aB</sup>	4.802±0.3806 <sup>B</sup>	4.779±0.4660 <sup>c</sup>	4.752±0.3021 <sup>cd</sup>	4.722±0.833 <sup>d</sup>
密度 Density	31.310±0.1697 <sup>a</sup>	30.900±0.1706 <sup>ac</sup>	30.130±0.2397 <sup>B</sup>	30.640±0.2934 <sup>ab</sup>	29.720±0.1902 <sup>c</sup>	28.690±0.5246 <sup>d</sup>
总蛋白 Total protein(%)	3.217±0.6631 <sup>b</sup>	3.244±0.6667 <sup>B</sup>	3.990±0.9363 <sup>a</sup>	3.157±0.1146 <sup>bc</sup>	3.093±0.7431 <sup>c</sup>	2.980±0.2050 <sup>c</sup>
pH	6.527±0.0993 <sup>C</sup>	6.551±0.9985 <sup>bc</sup>	6.579±0.1402 <sup>b</sup>	6.571±0.1717 <sup>b</sup>	6.606±0.1113 <sup>ab</sup>	6.640±0.3070 <sup>a</sup>
灰分 Ash(%)	0.953±0.2510 <sup>D</sup>	1.296±0.2524 <sup>a</sup>	1.136±0.3545 <sup>Bc</sup>	0.842±0.4338 <sup>c</sup>	1.101±0.2814 <sup>c</sup>	1.160±0.7760 <sup>B</sup>

注: 同一行间标注一个不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ); 标注不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ ), 括号内为基因型的个体数。  
Notes: The value of least square means in the same line with no common capital superscripts differ very significantly ( $P < 0.05$ ); while the value of least square means in the same line with capital letter superscripts differ extremely significant ( $P < 0.01$ ), the numbers in the brackets are the number of individuals that belong to the respective genotypes.

表 7 CXCR2 基因 Primer 5 位点各基因型对乳品质的影响  
Table 7 The effect of different genotypes of Primer 5 on quality of milk in CXCR2 gene

性状 Traits	最小二乘均数±标准误 LSM±SE		
	EE (61)	EF (57)	FF (10)
脂肪 Adipose(%)	3.530±0.2327 <sup>a</sup>	3.475±0.2746 <sup>a</sup>	3.287±0.4974 <sup>b</sup>
乳糖 Lactose(%)	4.840±0.2027 <sup>a</sup>	4.810±0.2392 <sup>a</sup>	4.654±0.4332 <sup>b</sup>
密度 Density	30.70±0.1593 <sup>a</sup>	30.50±0.1880 <sup>ab</sup>	29.82±0.3405 <sup>b</sup>
总蛋白 Total protein(%)	3.216±0.5095 <sup>a</sup>	3.119±0.6013 <sup>a</sup>	3.043±0.1089 <sup>a</sup>
pH	6.558±0.0862 <sup>b</sup>	6.566±0.1018 <sup>b</sup>	6.611±0.1843 <sup>a</sup>
灰分 Ash(%)	1.156±0.1928 <sup>a</sup>	0.983±0.2276 <sup>b</sup>	0.968±0.4121 <sup>b</sup>

注: 同一行间标注不同字母表示差异极显著( $P < 0.05$ ); 标注相同字母表示差异不显著( $P > 0.05$ )。  
Notes: The value of least square means in the same line with no common capital superscripts differ very significantly ( $P < 0.05$ ); while the value of least square means in the same line with same letter superscripts means they were insignificant ( $P > 0.05$ ).

### 3 讨论

本文采用单链构象多态性分析法, 以荷斯坦牛、西门塔尔牛和通江黄牛为研究对象, 研究了 CXCR2 基因的多态性, 发现 3 个多态位点。Youngerma 等<sup>[17,18]</sup>研究发现 CXCR2 基因存在 5 个单核苷酸多态位点分别为 612, 684, 777, 858, 861, 在本实验中没有发现 612 及 858 这 2 个多态位点, 这种差异可能是由样本素材来源于不同的遗传背景造成的。而本实验发现的 685 这一多态位点与

Youngerman 研究发现的 684 多态位点可能是由于缺失或插入造成一个位点的变化, 两者可能为同一突变。在牛发生乳房炎时, 嗜中性白细胞将从血液迁移到感染位点, 通过与受体 CXCR2 结合, 达到吞噬病原菌的最大作用。而本实验根据 GLM 对影响奶牛 SCS 的各种因素进行方差分析发现与奶牛乳房炎敏感性有关的主要是 BC、CC 和 FF, 这 3 种基因型都与奶牛乳房炎的敏感性存在着正的相关, 而 AA、AB 以及 EE 都与奶牛乳房炎的敏感性存在着负的相关, 也就是说 AA 型、AB 型以及 EE 型奶牛可能对乳房



炎有抗性。根据本实验通过不同基因型对产奶性状的遗传效应分析,发现与奶牛乳房炎敏感性相关的 *BC*、*CC* 和 *FF* 这个 3 个基因型的乳品质显著或极显著低于其他基因型,因此在生产上可以将 *BC*、*CC* 和 *FF* 基因型牛群作为非抗乳房炎牛群淘汰,避免经济损失。*CXCR2* 基因可以作为影响牛乳房炎和奶品质性状的可能主要候选基因,并将 SNP+777 及 SNP+861 两个多态位点用于抗乳房炎性状的选择。

## 参考文献(References):

- [1] Knall C, Young S, Nick JA, Buhl AM, Worthen GS, Johnson GL. Interleukin-8 regulation of the Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase pathway in human neutrophils. *J Biol Chem*, 1996, 271(5): 2832–2838. [\[DOI\]](#)
- [2] Loetscher P, Seitz M, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B. Both interleukin-8 receptors independently mediate chemotaxis. Jurkat cells transfected with IL-8R1 or IL-8R2 migrate in response to IL-8, GRO alpha and NAP-2. *FEBS Lett*, 1994, 341(2–3): 187–192. [\[DOI\]](#)
- [3] Paape M, Mehrzad J, Zhao X, Detilleux J, Burvenich C. Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2002, 7(2): 109–121. [\[DOI\]](#)
- [4] LI Jian-Bin, SUN Shao-Hua, TIAN Yu-Ze. Study on variability of somatic cell counts in the milk of Chinese Holstein cattle. *Acta Ecologicae Animalis Domastici*, 2006, 27(3): 78–81.  
李建斌, 孙少华, 田雨泽. 中国荷斯坦牛乳中体细胞数变化规律的研究. *家畜生态学*, 2006, 27(3): 78–81.
- [5] Damaj BB, McColl SR, Neote K, Songqing N, Ogborn KT, Hebert CA, Naccache PH. Identification of G-protein binding sites of the human interleukin-8 receptors by functional mapping of the intracellular loops. *FASEB J*, 1996, 10(12): 1426–1434.
- [6] Chrystal MA, Seykora AJ, Hansen LB, Freeman AE, Kelley DH, Healey MH. Heritability of teat-end shape and the relationship of teat-end shape with somatic cell score for an experimental herd of cows. *J Dairy Sci*, 2001, 84(11): 2549–2554.
- [7] Ashwell MS, Rexroad CE Jr, Miller RH, VanRaden PM. Mapping economic trait loci for somatic cell score in Holstein cattle using microsatellite markers and selective genotyping. *Anim Genet*, 1996, 27(4): 235–242.
- [8] Vilkkil HJ, Dekoning DI, Elo K, Velmala R. Multiple marker mapping of quantitative trait loci of Finnish dairy cattle by regression. *J Dairy Sci*, 1997, 80(1): 198–204.
- [9] Yao J, Burton JL, Saama P, Sipkovsky S, Coussens PM. Generation of EST and cDNA microarray resources for the study of bovine immunobiology. *Acta Vet Scand*, 2001, 42(3): 391–405.
- [10] Burton JL, Madsen SA, Yao J, Sipkovsky SS, Coussens PM. An immunogenomics approaches to understanding periparturient mastitis susceptibility in dairy cows. *Acta Vet Scand*, 2001, 42(3): 407–424.
- [11] Madsen SA, Weber PS, Burton JL. Altered expression of cellular genes in neutrophils of periparturient dairy cows. *Vet Immunol Immunopathol*, 2002, 86(3–4): 159–175. [\[DOI\]](#)
- [12] Coussens PM, Nobis W. Bioinformatics and high throughput approach to create genomic resources for the study of bovine immunobiology. *Vet Immunol Immunopathol*, 2002, 86(3–4): 229–244. [\[DOI\]](#)
- [13] YE Su-Cheng, CHU Ming-Xing, CHEN Guo-Hong. Progress on *MHC* polymorphism and its relationship with economic traits in dairy cattle. *Hereditas(Beijing)*, 2003, 25(1): 89–92.  
叶素成, 储明星, 陈国宏. 奶牛 *MHC* 基因多态性及其与经济性状关系的研究进展. *遗传*, 2003, 25(1): 89–92.
- [14] WANG Xing-Ping, XU Shang-Zhong, MA Teng-He, GAO Xue, REN Hong-Yan, CHEN Jin-Bao. Genetic variation in the 5' flanking region of bovine *TLR4* gene and correlation with mastitis. *Hereditas(Beijing)*, 2006, 28(12): 1520–1524.  
王兴平, 许尚忠, 马腾贺, 高雪, 任红艳, 陈金宝. 牛 *TLR4* 基因 5'侧翼区的遗传变异与乳房炎的关联. *遗传*, 2006, 28(12): 1520–1524.
- [15] WANG Xing-Ping, XU Shang-Zhong, GAO Xue, REN Hong-Yan, CHEN Jin-Bao. Genetic polymorphism of *TLR4* gene and correlation with mastitis in cattle. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34(5): 406–412.  
王兴平, 许尚忠, 高雪, 任红艳, 陈金宝. 奶牛 *TLR4* 基因的多态性与乳房炎的相关性研究. *遗传学报*, 2007, 34(5): 406–412.
- [16] TANG Shu-Zhen, LI Yong-Peng. Use SCC to monitor mammitis. *China Dairy Cattle*, 1999, 4: 45–46.  
唐淑珍, 李永鹏. 利用体细胞计数监控乳房炎. *中国奶牛*, 1999, 4: 45–46.
- [17] Youngerman SM, Saxton AM, Oliver SP, Pighetti GM. Association of *CXCR2* polymorphisms with subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 2004, 87(8): 2442–2448.
- [18] Youngerman SM, Saxton AM, Pighetti GM. Novel single nucleotide polymorphisms and haplotypes within the bovine *CXCR2* gene. *Immunogenetics*, 2004, 56(5): 355–359. [\[DOI\]](#)