

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.01182

IGFBP-3 基因多态性及其与中国美利奴羊部分羊毛性状的关联性分析

沈敏^{1,2}, 王文君³, 杨永林², 甘尚权^{1,2}, 何其宏⁴, 张永胜⁴, 王建华⁴, 马春萍⁴, 刘正山⁴, 刘守仁^{1,2}, 李宁⁵

1. 石河子大学动物科技学院, 石河子 832000;
2. 新疆兵团绵羊繁育生物技术重点实验室, 石河子 832000;
3. 江西农业大学食品科学与工程学院, 南昌 330045;
4. 新疆紫泥泉绵羊育种中心, 石河子 832025;
5. 中国农业大学农业生物技术国家重点实验室, 北京 100193

摘要: 采用 PCR-SSCP 方法对中国美利奴羊和哈萨克羊中 *IGFBP-3* 基因的多态性进行了检测, 并对不同基因型与中国美利奴羊部分羊毛性状间的关联性进行了分析。结果在位于内含子 1 区的一段 178 bp 的扩增产物经 SSCP 分析后出现了 3 种基因型, 基因型 *AA*、*AB* 和 *BB* 及等位基因 *A*、*B* 在中国美利奴羊中的频率分别为 0.70、0.24、0.06 和 0.82、0.18; 在哈萨克羊中的频率分别为 0.87、0.13、0.00 和 0.93、0.07。序列分析发现: 在该序列的 122 位碱基表现多态性 (g.122 G>T)。所研究的两个群体在该位点上均处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态 ($P<0.01$)。不同基因型对部分羊毛性状有一定的影响: 不同基因型个体在剪毛后体重和净毛率上没有明显差异。*AA*、*AB* 及 *BB* 基因型个体的羊毛伸直长度逐渐变短, 其中 *AA* 与 *AB* 基因型之间差异极显著 ($P<0.01$)。*AA* 型个体的剪毛量和羊毛密度要明显低于 *AB* 型 ($P<0.01$) 和 *BB* 型个体 ($P<0.05$); 羊毛纤维直径则明显高于 *AB* 型 ($P<0.01$) 和 *BB* 型 ($P<0.05$) 个体。

关键词: 中国美利奴羊; *IGFBP-3* 基因; 多态性; 羊毛性状

A novel polymorphism of *IGFBP-3* gene and its relationship with several wool traits in Chinese Merino sheep

SHEN Min^{1,2}, WANG Wen-Jun³, YANG Yong-Lin², GAN Shang-Quan^{1,2}, HE Qi-Hong⁴, ZHANG Yong-Sheng⁴, WANG Jian-Hua⁴, MA Chun-Ping⁴, LIU Zheng-Shan⁴, LIU Shou-Ren^{1,2}, LI Ning⁵

1. Animal Science and Technology college, Shihezi University, Shihezi 832000, China;
2. Key Laboratory for Biotechnology of Sheep Breeding of Xinjiang Production & Construction Corps, Shihezi 832000, China;
3. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;
4. Ziniquan Research Institute of Sheep Breeding, Shihezi 832025, China;
5. State Key Laboratory for Agrobiotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

收稿日期: 2007-12-25; 修回日期: 2008-01-31

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)项目(编号: 2006CB102101)资助[Supported by National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2006CB102101)]

作者简介: 沈敏(1968-), 女, 重庆人, 博士生, 副研究员, 研究方向: 动物遗传育种。E-mail: shenminchina@yahoo.cn

通讯作者: 李宁(1964-), 男, 江西人, 博士, 教授, 博士生导师, 中国工程院院士, 研究方向: 动物分子遗传。E-mail: ninglbau@public3.bta.net.cn

Abstract: In this study, PCR-SSCP analysis was used to identify genetic variation in *IGFBP-3* gene in Chinese Merino and Kazakh sheep. A PCR product of 178 bp corresponding to partial intron1 illustrated three unique binding patterns by SSCP analysis. Frequencies of the genotype *AA*, *AB*, *BB* and allele *A*, *B* in Chinese Merino sheep were 0.70, 0.24, 0.06, and 0.82, 0.18 respectively, and they were 0.87, 0.13, 0.00, and 0.93, 0.07 respectively in Kazaka sheep. Sequence analysis revealed a G/T transversion at position 122 of the fragment. This polymorphic locus of *IGFBP-3* gene was at Hardy-Weinberg disequilibrium ($P < 0.01$) in the two breeds. Different genotypes slightly affected several wool traits of Chinese Merino sheep. The individuals of genotype *AA*, *AB*, and *BB* had no significant difference in post-shearing weight and clean wool rate. Staple length (SL) was decreased with the genotype of *AA*, *AB*, and *BB*, and the difference between *AA* and *AB* was significant ($P < 0.01$). Greasy fleece weight (GFW) and follicle density in individuals of genotype *AA* was significantly lower than that in individuals of genotype *AB* ($P < 0.01$) and *BB* ($P < 0.05$); Average fiber diameter (AFD) in individuals of genotype *AA* was significantly higher than that in individuals of genotype *AB* ($P < 0.01$) and *BB* ($P < 0.05$).

Keywords: Chinese Merino sheep; *IGFBP-3* gene; polymorphism; wool trait

胰岛素样生长因子结合蛋白 3 (IGFBP-3)是血清中IGFs的主要载体^[1], 主要由肝脏合成。IGFBP-3通过与循环和组织中的IGF- 非共价结合, 延长其半衰期, 而对IGF- I 的功能起到重要的调节作用^[2]。此外, 其自身还具有IGF非依赖性作用^[3]。

IGFs 在人、鼠和绵羊毛囊形态发生和毛发生长过程中的作用已经得到证实^[4], 被认为是影响羊毛和毛囊发育的一个候选基因^[5]。由于IGFs 和IGFBPs 之间存在着广泛的相互作用, IGFBPs 有可能会在毛囊发育和生长的一个或多个环节发挥作用。目前 *IGFBP-3* 对毛囊的作用已陆续在人和鼠上得到证实。*IGFBP-3* 基因在人和小鼠毛囊的表达部位主要是在真皮乳头^[6,7]。其在小鼠毛囊周期中的时空表达模式为生长期最低, 退行期急剧上升, 退行期中期达到最高, 到生长终期随之下降^[8]。一项来自转基因小鼠的研究结果表明, *IGFBP-3* 基因对毛囊角质细胞增殖具有明显的拮抗作用^[7]。而大批毛囊角质细胞的凋亡正是毛囊退行期的一个重要特征^[9]。

到目前为止, 还没有 *IGFBP-3* 基因对绵羊毛囊生长发育和羊毛性状作用的相关报道, 但来自人和小鼠的这些研究成果激发了我们的兴趣, 我们推测 *IGFBP-3* 基因在绵羊毛囊生长发育过程中起到一定的作用, 并进而影响到羊毛的性状和质量。

鉴于此, 我们将 *IGFBP-3* 基因作为影响绵羊毛毛性状的候选基因, 采用 PCR-SSCP 方法对中国美利奴羊和新疆本地粗毛羊品种哈萨克羊中 *IGFBP-3* 基因的多态性进行了检测, 并对不同基因型与中国美利奴羊部分羊毛性状之间的关联性进行了分析, 以期寻找到与羊毛主要生产性状尤其是羊毛细度有

关的 SNP 位点。本文报道的是在绵羊 *IGFBP-3* 基因的内含子 1 上发现的一个 SNP 位点, 并对其与绵羊毛生产性状的相关性进行了分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

中国美利奴(新疆军垦型)细毛羊育成羊 407 只, 新疆本地哈萨克羊 60 只, 均采自新疆紫泥泉绵羊育种中心。直接夹取耳组织块, 放入 70%乙醇中带回, 置于 -20℃ 冷冻保存。其中中国美利奴细毛羊的羊毛生产记录(剪毛后体重、剪毛量、净毛率、伸直长度、羊毛纤维直径和羊毛密度)均由新疆紫泥泉绵羊育种中心提供。

1.1.2 主要试剂

10 × PCR buffer, dNTPs, *Taq* DNA 聚合酶和 100 bp marker 均为天为时代公司的产品。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取

采用常规的苯酚/氯仿法制备。

1.2.2 引物设计与合成

根据牛 *IGFBP-3* 基因 (GenBank 登录号: AF305712)的内含子 1 序列^[10], 利用Oligo 6.0 软件设计 1 对引物, 序列为: 上游引物: 5'-AGCATGCTTAGCCAGCCT-3'; 下游引物: 5'-CTGCACGGA-GGGAAATTAG-3'。交由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2.3 PCR 扩增

PCR 反应体系: 基因组 DNA 50~100 ng, 10 ×

PCR buffer 2.5 μ L, 2.5 mmol/L $MgCl_2$, 150 μ mol/L dNTPs, 上下游引物各 0.2 μ mol/L, *Taq* DNA 聚合酶 1U, 加灭菌纯水至总体积为 25 μ L。

PCR 反应条件: 95 预变性 5 min; 94 30 s, 56 30 s, 72 30 s, 共进行 35 个循环; 最后 72 延伸 8 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后用于 SSCP 分析。

1.2.4 SSCP 检测

适量 PCR 产物经变性处理后, 通过 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶在 1×TBE 条件下进行电泳。电压 120 V, 电泳 12~14 h。电泳结束后取下凝胶, 进行固定、银染和显色。观察分析不同的带型并用 Genesnap 软件进行拍照并保存。

1.2.5 DNA 测序

根据 SSCP 检测初步判定的 3 种基因型(AA、AB、BB 型), 分别以代表 3 种基因型个体的基因组 DNA 为模板, 进行 PCR 扩增。PCR 产物经胶回收后直接测序, 每个基因型测 2 个个体。

1.2.6 统计分析

应用 SSPS 软件, 分析绵羊 *IGFBP-3* 不同基因型对中国美利奴细毛羊毛生产性能的影响。

2 结果与分析

2.1 绵羊 *IGFBP-3* 的 PCR-SSCP 及序列分析

以绵羊基因组 DNA 为模板, PCR 扩增得到了长度为 178 bp 的特异条带。该序列与牛 *IGFBP-3* intron1 序列(GenBank 登录号: AF305712, 5538~5715 nt)相似性达到 97%, 将该序列提交 GenBank, 登录号为 EU256481。对呈现 3 种不同 SSCP 带型的 PCR 产物的测序结果显示, 在该序列的 122 碱基处发生了一个碱基 G→T 的突变(g.122 G>T)。该引物的 SSCP 胶图、SNP 位点区测序峰图以及基因型定义见图 1 所示。

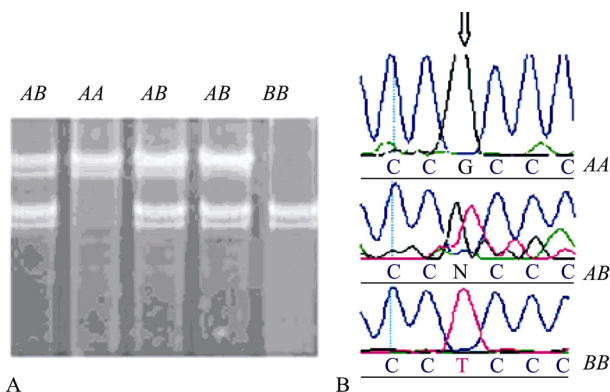


图 1 *IGFBP-3* PCR-SSCP 和测序图

A: 不同基因型的 PCR-SSCP 电泳胶图; B: 不同基因型的测序图, 箭头表示突变发生的位置。

Fig. 1 PCR-SSCP and sequencing photo for *IGFBP-3*

A: Photo of the PCR-SSCP electrophoresis of different genotypes; B: Sequencing photo of different genotypes, arrow indicates the mutant site.

2.2 不同基因型和等位基因在不同品种绵羊中的频率分布

如表 1 所示, 在 2 个绵羊品种中均检测到 A、B 两个等位基因。中国美利奴羊的 AA、AB 和 BB 3 种基因型频率分别为 0.70、0.24 和 0.06, 在哈萨克羊中没有检出 BB 基因型个体, 只检测到 AA、AB 两种基因型, 其频率分别为 0.86 和 0.13。A、B 等位基因在中国美利奴羊和哈萨克羊中的分布频率分别为 0.82、0.18 和 0.93、0.07。卡方检验表明两个品种绵羊在该位点上均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态($P<0.01$)。

2.3 不同基因型与部分羊毛生产性状的关联分析

实验对不同基因型与中国美利奴羊部分羊毛性状的关联性进行了分析。结果表明: 不同基因型个体在剪毛后体重和净毛率上没有明显差异(数据未公布), 而在剪毛量、羊毛伸直长度、纤维直径和羊毛密度上存在显著或极显著差异。如表 2 所示, 剪毛量由低到高依次为 AA、AB、BB 基因型个体, 其中 AA 基因型与 AB、BB 基因型之间的差异分别达到

表 1 基因频率和基因型频率在不同品种绵羊中的分布以及 Hardy-Weinberg 平衡的卡方检验

Table 1 Genotypes and allele frequencies distributions in different sheep breeds and Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium

品种 Breed	数量 No.	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency		Hardy-Weinberg χ^2
		AA	AB	BB	A	B	
中国美利奴羊(新疆军垦型) Chinese Merino (Xinjiang Junken type)	407	0.70 (284)	0.24 (98)	0.06 (25)	0.82 (333)	0.18 (74)	123.43**
哈萨克羊 Kazakh Sheep	60	0.87(52)	0.13 (8)	0.00 (0)	0.93 (56)	0.07 (4)	34.63**

注: 括号内为不同基因型或等位基因的个体数。*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ ($\chi^2_{0.05}=5.99$, $\chi^2_{0.01}=9.21$)。

Notes: Bracket means the number of different genotypes or alleles.

极显著($P<0.01$)和显著水平($P<0.05$)。羊毛伸直长度由长到短依次为 *AA*、*AB* 和 *BB* 基因型, 其中 *AA* 与 *AB* 基因型之间差异极显著($P<0.01$), *BB* 基因型个体的羊毛伸直长度最短, 但其与 *AB* 和 *AA* 基因型之间差异不显著。羊毛纤维直径由大到小依次为 *AA*、*AB*、*BB* 基因型个体, 其中 *AA* 与 *AB* 和 *BB* 基因型之间的差异分别达到极显著($P<0.01$)和显著水平($P<0.05$)。羊毛密度由小到大依次为 *AA*、*AB* 和 *BB* 基因型个体, 其中 *AA* 基因型与 *AB*、*BB* 基因型之间的差异分别达到极显著($P<0.01$)和显著水平($P<0.05$)。

表 2 不同基因型与细毛羊主要羊毛性状的多重比较
Table 2 Multiple comparison between different genotypes and wool traits in Chinese Merino sheep

基因型 Genotype	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
数量 No.	284	98	25
剪毛量 Greasy fleece weight (GFW) (kg)	4.9543 ± 0.0636 ^{Aa}	5.3709 ± 0.1068 ^B	5.5900 ± 0.1300 ^b
伸直长度 Staple length (SL) (cm)	12.6251 ± 0.095 ^A	11.8368 ± 0.1496 ^B	11.7500 ± 0.3627
羊毛纤维直径 Average fiber diameter (AFD) (μm)	21.8476 ± 0.1034 ^{Aa}	20.9640 ± 0.1880 ^B	20.7785 ± 0.5032 ^b
羊毛密度(根/cm ²) Follicle density(roots/cm ²)	6166.6129 ± 102.2227 ^{Aa}	6810.2432 ± 167.7741 ^B	7017.0870 ± 271.7024 ^b

注: 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 同行不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Notes: Means in a row with different lowercase superscripts are different at $P<0.05$, means in a row with different capital superscripts are different at $P<0.01$.

3 讨论

IGFBP-3 基因是GH/IGFs轴的一个重要成员, 由于它对机体细胞具有广泛的促生长作用, 人们将其作为影响动物生长发育的一个重要候选基因进行了一定的研究。最近几年, 有关*IGFBP-3* 基因的多态性与牛和山羊等生长发育性状的相关性分析已有陆续报道[11~17]。而对于绵羊*IGFBP-3* 基因的研究较少, 尤其是该基因与羊毛生产性能的相关研究尚未见报道。

我们在对绵羊 *IGFBP-3* 基因进行多态性检测过程中, 在该基因内含子 1 区一段长度为 178 bp 的序列中发现了 一个 SNP 位点(g.122 G>T)。在被检测的两个品种绵羊中均有 *A*、*B* 两个等位基因存在, 且都是以 *A* 等位基因为主。在中国美利奴羊群体中检出了 3 种不同基因型, 但 *AA* 基因型为主, *BB* 基因型个体较少, 而在哈萨克羊中只检出 *AA* 和 *AB* 两种基因型, 未检出 *BB* 基因型个体。被检测的两个群体在该位点均处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态($P<0.01$)。

在家畜品种的遗传改良中, 需要通过引种等人工选择的途径来对某个数量性状进行定向选择, 这样势必导致与该数量性状的主效基因及与之连锁的其他基因或遗传标记的遗传平衡被打破。中国美利奴羊是我国通过引进国外优秀的细毛羊血液, 在新疆本地粗毛羊品种哈萨克羊的基础上进行品种改良而育成的一个细毛羊品种。本研究发现, 在中国美

利奴羊中 *IGFBP-3* 基因座处于 Hardy-Weinberg 极度不平衡状态, 而且该基因座对羊毛部分生产性状有一定影响。这可能是在中国美利奴羊的选育过程中施加了一定选择压的结果, 但是要使该性能得到进一步提高, 并保持其遗传结构的稳定, 还需要提高选择强度, 进一步加强选育工作。而在哈萨克羊中虽然没有检出 *BB* 基因型, 但有少量的 *AB* 基因型(13%), 则有可能是由于随机遗传漂变的结果。

进行多态性检测的目的是为了最终找到与羊毛性状有关的 SNP 位点, 本实验根据目前我国细毛羊育种需要选择了以下羊毛生产指标: 羊毛纤维直径、剪毛量、净毛率、羊毛伸直长度、羊毛密度以及剪毛后体重。羊毛纤维直径是反映羊毛品质的最主要性状, 它与净毛量是决定羊毛价值的主要因素。尤其是近年来, 随着国际市场对超薄精制高档毛纺制品的需求增加, 超细羊毛价格 and 市场需求随之增加, 极大地推动了超细毛羊的饲养, 超细毛羊生产已成为当今世界羊毛业发展的方向。因此, 羊毛纤维直径应是我国超细型细毛羊育种中的重要目标性状。同时因羊毛纤维直径和毛长、羊毛密度之间均存在着遗传负效应, 在将羊毛纤维直径作为目标性状的同时, 还要兼顾毛长和密度; 而净毛量可以通过剪毛量和净毛率两个指标反映出来。综合以上考虑, 我们确定了羊毛纤维直径、剪毛量、净毛率、羊毛伸直长度以及羊毛密度作为实验分析的主

要羊毛性状。另外,考虑到体重是影响产毛性能的一个间接性状,一般来说,体重大的羊体型大、产毛量高,同时,在淘汰作肉用出售时所获得的商品价值也大。因此,本实验在确定羊毛性状时也选择了剪毛后体重这一生长发育指标。

4 结 论

不同基因型与中国美利奴羊部分羊毛生产性状的关联性分析结果显示:本实验所报道的绵羊 *IGFBP-3* 基因不同基因型个体在剪毛后体重、净毛率等性状上没有明显差异,而在剪毛量、羊毛伸直长度、纤维直径和羊毛密度上存在显著或极显著差异。其中 *BB* 基因型很有可能是对羊毛纤维直径有利的一个基因型,但由于 *BB* 基因型的个体数太少,其在羊毛性状上的优势效应,还需要进一步扩大样本含量加以验证。

参考文献(References):

- [1] McCusker RH, Clemmons DR. The insulin-like growth factor binding proteins: structure and biological functions. Paul N. Schofield. The Insulin-like Growth Factors: Structure and Biological Functions. Oxford New York Tokyo: Oxford University Press, 1992, 111–148.
- [2] Collet C, Candy J. How many insulin-like growth factor binding proteins? *Mol Cell Endocrinol*, 1998, 139: 1–6. [\[DOI\]](#)
- [3] Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-Like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: Regulation and functions. *Endocr Rev*, 1997, 18(6): 801–831. [\[DOI\]](#)
- [4] Sutton R, Ward WG, Raphael KA, Cam GR. Growth factor expression in skin during wool follicle development. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 1995, 110B(4): 697–705. [\[DOI\]](#)
- [5] Philpott MP, Sanders D, Westgate GE, Kealey T. Human hair growth *in vitro*: a model for the study of hair follicle biology. *J Dermatol Sci*, 1994, 7: S55–S72. [\[DOI\]](#)
- [6] Batch JA, Mercuri FA, Werther GA. Identification and localization of Insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) messenger RNAs in human hair follicle dermal papilla. *J Invest Dermatol*, 1996, 106 (3): 471–475. [\[DOI\]](#)
- [7] Weger N, Schlake T. *IGFBP-3* modulates cell proliferation in the hair follicle. *J Invest Dermatol*, 2005, 125 (4): 847–849. [\[DOI\]](#)
- [8] Schlake T, Beibel M, Weger N, Boehm T. Major shifts in genomic activity accompany progression through different stages of the hair cycle. *Gene Expr Patterns*, 2004, (4): 141–152. [\[DOI\]](#)
- [9] Ralf Paus MD, George Cotsarelis MD. The biology of hair follicles. *Mechanisms of Disease*, 2005, 341: 491–497.
- [10] Erondur NE, Toland B, Boes M, Dake B, Moser DR, Bar RS. Bovine insulin-like growth factor binding protein-3: organization of the chromosomal gene and functional analysis of its promoter. *Endocrinology*, 1997, 138 (7): 2856–2862. [\[DOI\]](#)
- [11] Kumar P, Choudhary V, Kumar K, Bhattacharya T, Bhushan B, Sharma A, Mishra A. Nucleotide sequencing and DNA polymorphism studies on *IGFBP-3* gene in sheep and its comparison with cattle and buffalo. *Small Ruminant Research*, 2006, 64: 285–292. [\[DOI\]](#)
- [12] Choudhary V, Kumar P, Bhattacharya TK, Bhushan B, Sharma A, Shukla A. DNA polymorphism of insulin-like growth factor-binding protein-3 gene and its association with birth weight and body weight in cattle. *J Anim Breed Genet*, 2007, 124: 29–34. [\[DOI\]](#)
- [13] Lan X, Pan C, Chen H, Lei C, Liu S, Zhang Y, Min L, Yu J, Li J, Zhao M. The *HaeIII* and *XspI* PCR-RFLPs detecting polymorphisms at the goat *IGFBP-3* locus. *Small Ruminant Research*, 2007, 73(1-3): 283–286. [\[DOI\]](#)
- [14] MIN Ling-Jiang, SHEN Wei, LI Mei-Yu, LIU Huan-Qi, CHEN Hong, PAN Qing-Jie. Relationship between *IGFBP-3* gene polymorphism and body weight traits and carcass traits in goat. *Journal of Guangxi Agricultural and Biological Science*, 2006, 25(B09): 56–58.
闵令江, 沈伟, 李美玉, 刘焕奇, 陈宏, 潘庆杰. 山羊 *IGFBP-3* 基因多态性与体重、屠体性状的关系. 广西农业生物科学, 2006, 25(B09): 56–58.
- [15] SUN Wei-Bin, CHEN Hong, LEI Xue-Qin, LEI Chu-Zhao, ZHANG Ying-Han, LI Rui-Biao, ZAN Lin-Sen, HU Shen-Rong. Polymorphisms of insulin-like growth factor binding protein 3 gene and its associations with several carcass traits in Qinchuan cattle. *Hereditas(Beijing)*, 2003, 25(5): 511–516.
孙维斌, 陈宏, 雷雪琴, 雷初朝, 张英汉, 李瑞彪, 曾林森, 胡沈荣. *IGFBP-3* 基因多态性与秦川牛部分屠宰性状的相关性. 遗传, 2003, 25(5): 511–516.
- [16] ZHANG Run-Feng, CHEN Hong, LEI Chu-Zhao, FANG Xing-Tang, SUN Wei-Bin, HU Shen-Rong, SU Li-Hong. Associations between genetic polymorphisms at five loci and milk production traits in Xi'an population of Chinese Holstein. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2006, 14(3): 329–333.
张润锋, 陈宏, 雷初朝, 房兴堂, 孙维斌, 胡沈荣, 苏利红. 西安地区荷斯坦奶牛群 5 个基因位点遗传多态性与泌乳性状的相关分析. 农业生物技术学报, 2006, 14(3): 329–333.
- [17] ZHANG Run-Feng, CHEN Hong, LEI Chu-Zhao, HU Shen-Rong, SU Li-Hong. PCR-RFLP polymorphism of insulin-like growth factor binding protein 3 gene and its association with milk trait of Chinese Holstein. *Chinese Journal of Animal Science*, 2006, 42(3): 9–11.
张润锋, 陈宏, 雷初朝, 胡沈荣, 苏利红. *IGFBP-3* 基因 PCR-RFLP 多态性与中国荷斯坦牛泌乳性状的相关分析. 中国畜牧杂志, 2006, 42(3): 9–11.