

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00393

奶牛乳铁蛋白基因 5' 侧翼区遗传多态性及其与乳腺炎关联性分析

王洪梅, 孔振兴, 王长法, 黄金明, 李秋玲, 侯明海, 李建斌, 仲跻峰

山东省农业科学院奶牛研究中心, 济南 250100

摘要: 牛乳铁蛋白(Lactoferrin, LF)是保护乳腺组织的防御因子之一,是具有多种功能的糖蛋白。关于牛 LF 基因的多态性研究的报道较多,但其多态性与奶牛乳腺炎相关性的研究较少。文章采用 PCR-RFLP、CRS-PCR 对 268 头中国荷斯坦牛 LF 基因启动子区的-926(G/A)、-915(T/G)、-478(/G)、+72(T/C)突变进行基因型分型,应用最小二乘线性模型分析 LF 基因多态性与体细胞评分(Somatic cell score, SCS)的相关性。结果表明,新发现 +72(T/C)和-478(/G)对 SCS 有显著影响,而其他两个位点对 SCS 影响不显著($P>0.05$)。+72(T/C)的 AB 基因型是优良基因型,其个体的 SCS 值均显著低于 AA 型($P<0.01$)、BB 型个体($P<0.05$)。-478(/G)位点的 C 等位基因是优良的等位基因,CC 基因型个体的 SCS 值极显著低于 CD、DD 基因型个体($P<0.01$)。因此,LF 基因+72(T/C)的 AB 基因型和-478(/G)位点的 CC 基因型均是奶牛乳腺炎抗性的优良基因型,可作为分子标记应用于奶牛乳腺炎抗性筛选。

关键词: 乳铁蛋白基因 5'侧翼区;遗传多态性;乳腺炎;体细胞评分;中国荷斯坦牛

Genetic polymorphism in 5' -flanking region of the lactoferrin gene and its associations with mastitis in Chinese Holstein cows

WANG Hong-Mei, KONG Zhen-Xing, WANG Chang-Fa, HUANG Jin-Ming, LI Qiu-Ling, HOU Ming-Hai, LI Jian-Bin, ZHONG Ji-Feng

Dairy Cattle Center of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China

Abstract: Bovine lactoferrin (LF) is a multifunctional glycoprotein found in milk, which acts mainly as a defense factor in the mammary gland. Polymorphism has been found in the bovine LF gene. However, there is no report on genetic polymorphism of LF gene and its associations with mastitis in dairy cattle. In this study, the promoter fragment of LF gene containing -926(G/A), -915(T/G), -478(/G), and +72(T/C) mutations were genotyped by the PCR-RFLP and CRS-PCR method. Two hundred and sixty-eight Chinese Holstein cows were screened. Least square linear model (LSM) analysis was applied to evaluate the associations of LF gene with somatic cell score (SCS). The results indicated that the SCS was significantly affected by -478(/G) and +72(T/C), but not by the other two loci ($P>0.05$). The SCS of cow with genotype AB in +72(T/C) position was significantly lower than that of genotype AA ($P<0.01$) or AB ($P<0.05$). In position -478(/G), the cow with genotype CC showed significantly lower SCS in contrast to cow with genotype CD and DD ($P<0.01$). In conclusion,

收稿日期: 2008-05-19; 修回日期: 2008-07-29

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863 计划)(编号: 2006AA10Z1D9), 公益性行业科研专项(编号: nyhyzx07-036-09), 山东省良种工程(编号: 2006LZ10-04)和山东省科技攻关项目(编号: 2006GG2209011)资助

作者简介: 王洪梅(1974-), 女, 硕士研究生, 助理研究员, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: homey68@163.com

通讯作者: 仲跻峰(1964-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 牛遗传育种与繁殖。E-mail: sdox2@163.com

genotype *AB* in position +72(T/C) and genotype *CC* in position -478(G) of *LF* gene were advantageous genotype, which can be used as candidate markers for mastitis resistance selection in dairy cattle.

Keywords: *LF* gene 5'-flanking region; genetic polymorphism; mastitis; SCS; Chinese Holstein cattle

乳腺炎是奶牛的多发病、常见病之一,可降低奶牛产奶量和牛奶质量,并造成奶牛淘汰率的增加,给奶牛生产带来严重的危害。目前,主要应用抗生素治疗奶牛乳腺炎,虽然取得一定效果,但带来了“抗性乳”及耐药菌株等问题,严重威胁着人类的健康。近年来,世界各国特别是奶业发达国家在不断研制开发高效疫苗的同时,开展乳腺炎抗性育种研究,从遗传本质上提高奶牛对乳腺炎的抗性。乳铁蛋白(Lactoferrin, LF)是一种铁结合性糖蛋白,增强铁的传递与吸收,可抑制细菌的生长、抗病毒、调节补体系统及机体的免疫能力,刺激免疫应答及溶菌酶再生而起到抑菌或杀菌作用^[1]。LF无论在体内还是体外都具有抗病原微生物的活性,主要通过抑制细菌和病毒的半胱氨酸蛋白酶活性,从而保护乳腺组织不受病原微生物侵害^[2]。Sordillo等^[3]研究表明,LF浓度是可遗传的($h^2=0.4$),其含量和乳腺炎的发生存在相关性,并发现在复原的乳腺组织内LF能极大地阻止葡萄球菌和大肠杆菌的生长。在不同应激阶段,血清中LF浓度与大肠杆菌诱导的乳腺炎临床症状的严重程度有关^[4]。Molenaar等^[5]研究发现,牛*LF*基因在不同时期、不同状态下表达有所差异,在发生乳腺炎的乳腺组织中*LF*基因表达量较高,从而证明炎症反应能够诱导*LF*基因表达。

近年来,牛*LF*基因的研究已经取得了较大的进展。Zheng等^[6]研究发现,牛*LF*启动子区至-543位具有基本活性,至-1029位的启动子片段活性最强,启动子活性受-2462/-1879和-1029/-75两个区域正向调节,受-1407/-1029区域反向调节,并推测牛启动子抗感染途径为NF- κ B途径。牛*LF*启动子区具有丰富的多态性^[7-13],其遗传多态性与乳腺炎抗性相关^[8,11]。相同环境下奶牛个体间乳腺炎抗性的差异、LF本身具有的抗菌活性、牛乳中LF浓度随着乳腺炎严重程度不同的变化及LF的可遗传性和基因多态性的发现,为牛*LF*基因作为乳腺炎抗性候选基因提供理论支持。因此,本研究通过PCR-RFLP、CRS-PCR、

DNA测序技术对牛*LF*基因 5'侧翼区进行多态性研究,同时结合奶牛的体细胞评分(Somatic cell score, SCS)数据,进行牛*LF*基因多态性与奶牛乳腺炎的相关性分析,寻找与乳腺炎抗性相关的基因型,为标记辅助选择提供有力的依据,并为奶牛乳腺炎的抗病育种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验牛群和性状测定

采集来自天津 5 个奶牛场的 268 头荷斯坦奶牛血液样本,颈静脉采血,3.8%柠檬酸钠抗凝,-20℃冷冻保存备用。上述牛群均具备齐全的系谱资料、2 个泌乳期以上的生产性能数据。

1.1.2 主要试剂

Taq DNA 聚合酶、dNTPs、DL2000 Marker 购自宝生物工程(大连)有限公司;胶回收试剂盒、琼脂糖、丙烯酰胺、甲叉丙烯酰胺购自 Ameresco 公司。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

常规方法从冷冻血样中提取基因组 DNA。

1.2.2 PCR 引物和 PCR 扩增

根据牛 *LF* 基因 DNA 序列(GenBank 登录号:AY319306),对已报道的单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNP)位点-478(G)、-915(T/G)、-926(G/A),及潜在的 SNP 位点+72(T/C)(通过比对 GenBank 登录序列发现的),采用 Primer5.0 和 Oligo6.0 软件设计引物(表 1)。引物序列由上海生工生物工程技术有限公司合成。

PCR 扩增总体积为 25 μ L,其中 10 \times PCR buffer 2.5 μ L、MgCl₂ (25 mmol/L) 2.1 μ L、dNTPs (10 mmol/L) 0.25 μ L、上下游引物(25 μ mol/L)各 0.25 μ L、

表 1 牛 *LF* 基因 5'侧翼区基因分型的引物序列、PCR 复性温度和产物长度

| 基因位点 | 引物名称及序列 (5' 3') | 复性温度 (°C) | 扩增片段长度 (bp) |
|-----------|---|-----------|-------------|
| +72(T/C) | P3: GATAAAGGGACGCGAGAACGAGC P4: ATACCTGCACTCACCAACGGCTCC | 58 | 125 |
| -478(/G) | P1: CCTGCGTGGGAGTTGTTGTGC P2: GGAGACCGAGGGAGCGAGAAA | 59 | 712 |
| -915(T/G) | P7: AACCTACACATGCTGCAATGGAAG P8: TGCTTATCGTTCCTGATTGCAGG | 58 | 92 |
| -926(G/A) | P5: GAAGTCCTCCCCACCCCTTGTCG P6: AGGACACTCCCTTGAAGCACAACA | 56 | 115 |

注: 阴影的碱基为引物序列中引入错配的碱基。

Taq DNA 聚合酶 1.0 U、模板 DNA 50 ng, ddH₂O 18.0 μL。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 然后 94 °C 变性 20 s, 复性 30 s(复性温度见表 1), 72 °C 延伸 40 s, 35 个循环; 最后延伸 7 min。1%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.2.3 PCR 产物的酶切分析

总体积为 10 μL: 10× H Buffer 1.0 μL、PCR 扩增产物 4 μL、限制性内切酶 6 U(表 2), 37 °C 过夜, 12%聚丙烯酰胺凝胶电泳, 硝酸银染色, 统计基因型。

表 2 中国荷斯坦奶牛 *LF* 基因 5'侧翼区限制性内切酶基因型分型

| 基因位点 | 限制性内切酶 | 酶切片段大小(bp) |
|-----------|-----------------|----------------------|
| +72(T/C) | <i>Eco</i> T14 | AA: 99、17、9 |
| | | AB: 108、99、17、9 |
| | | BB: 17、108 |
| | | CC: 325、311、72、4 |
| -478(/G) | <i>Hpy</i> F10V | CD: 387、325、311、72、4 |
| | | DD: 325、387 |
| | | EE: 68、24 |
| | | FF: 92、68、24 |
| -915(T/G) | <i>Hae</i> | FF: 92 |
| | | GG: 91、24 |
| | | GH: 115、91、24 |
| | | HH: 115 |

1.2.4 PCR 产物的回收测序

经 RFLP 分析后, 将不同基因型个体的 PCR 扩增产物用柱式胶回收试剂盒回收纯化, 将回收后的 DNA 片段及相应的上、下游引物送交上海生工生物工程技术有限公司进行测序。

1.2.5 统计分析方法

根据实验结果计算该位点的基因频率与基因型频率, 对该位点基因型的分布进行 Hardy-Weinberg 平衡的卡方适合性检验。根据影响 SCS 的因素, 在对基因型效应进行分析时采用了固定模型:

$$y_{ijklm}=\mu+C_i+T_j+G_k+S_l+e_{ijkl}$$

其中: y_{ijklm} -个体性状表型值; μ -群体均值; C_i -环境的固定效应; T_j -第 j 胎次的固定效应; G_k -第 k 种基因型的固定效应; S_l -产犊季节的固定效应; e_{ijkl} -随机误差。

运用 SAS(Statistical Analysis System)8.0 软件对数据进行分析, 并用最小二乘法拟合线性模型, 对基因型与乳腺炎性状(SCS)的关联进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 牛 *LF* 基因的 PCR-RFLP 分析及测序分析

用所合成的引物扩增基因组, 所得产物用 1%琼脂糖检测, 分别扩增到与目的片段大小一致的扩增片段 125 bp、712 bp、92 bp、115 bp, 且条带清晰特异性好(图 1), 可直接用于 RFLP 分析。牛 *LF* 基因的扩增产物分别使用相应的限制性内切酶(表 2)消化, 根据电泳图分析 4 个位点均出现了 3 种带型, 结合测序结果, 其片段大小详见表 2 和图 2。由于 4 bp、9 bp、17 bp、24 bp 片段太短, 因此, 难以在 12%聚丙烯酰胺凝胶电泳中检测到。从测序结果(图 3)可以看出, 在参考序列 AY319306 的 3429 位(-926)、3440 位(-915)、3879 位(-478)和 4432 位(+72)分别存在 G/A、T/G、G 的插入(/G)、T/C 突变。

2.2 荷斯坦奶牛 *LF* 基因的基因型频率、基因频率分析

中国荷斯坦奶牛的 *LF* 基因分别经过限制性内切酶 *Eco*T14、*Hpy*F10V、*Hae*、*Taq* 酶切后表现为多态性, 这 4 个位点的基因频率和基因型频率见表 1。可以看出, 在+72(T/C)、-478(/G)、-926(G/A)、-915(T/G)位点, 中国荷斯坦牛群体的优势基因分别为 *B*、*C*、*E*、*H* 等位基因, 等位基因频率分别为 0.8133、0.5474、0.5506、0.6024。

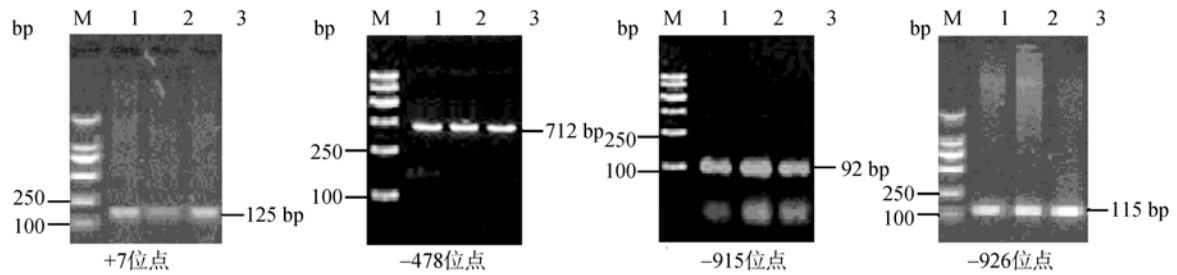


图 1 荷斯坦奶牛 *LF* 基因 5'侧翼区的 PCR 扩增结果

M: DL2000 Marker.

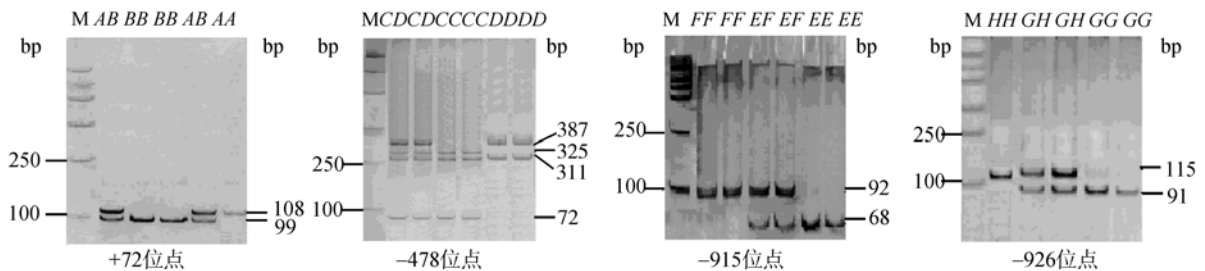


图 2 荷斯坦奶牛 *LF* 基因 5'侧翼区的 RFLP 聚丙烯酰胺凝胶电泳图

M: DL2000 Marker.

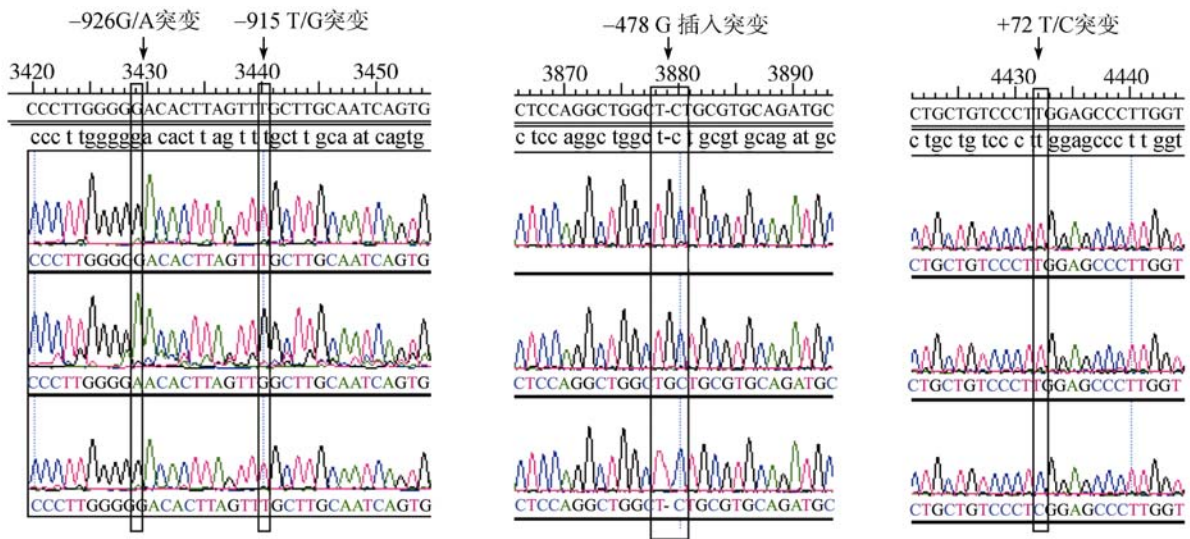


图 3 中国荷斯坦牛 *LF* 基因 5'侧翼区的序列分析

2.3 群体的 χ^2 检验、多态信息含量、杂合度及有效等位基因数

表 4 为 3 个基因座在群体中的 χ^2 检验、多态信息含量、杂合度及有效等位基因数。经过 χ^2 适合性检验, 在试验牛群中+72(T/C)、-926(G/A)位点均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态($P>0.05$), 而-915(T/G)、-478(G)位点均处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态

($P<0.05$)。实验牛群在此 4 个位点均表现为中度多态($0.25<PIC<0.5$)。

2.4 牛 *LF* 基因多态性与乳腺炎的关联性分析

用标记效应组成的固定模型, 对 SCS 指标进行方差分析, 如表 5 所示。由表可以看出, 胎次效应和场效应对 SCS 达到了极显著水平($P<0.001$), +72

位点和-478位点的基因型效应对SCS达到了显著水平($P<0.05$)。表明奶牛乳腺炎受胎次、场和基因型的影响。此外,还进行了各位点的基因型对SCS的效应进行最小二乘均值显著性检验(表6)。结果显示,+72(T/C)位AB基因型个体的SCS值极显著低于AA基因型个体($P<0.01$),显著低于BB型个体($P<0.05$),BB基因型个体与AA型个体差异不显著($P>0.05$),表明AB基因型个体表现出乳腺炎抗性。-478(/G)位CC基因型个体的SCS值极显著低于CD、DD基因型个体($P<0.01$),表明CC基因型个体表现出乳腺炎抗性,C等位基因是优良的等位基因。而-915(T/G)和-926(G/A)的基因型对SCS效应检验不显著。

3 讨论

3.1 牛LF基因5侧翼区SNPs的研究

基因的5侧翼区在基因表达与调节的过程中起着极为重要的作用,启动子区是基因转录的开始部位,启动子识别是转录的限速步骤,因此启动子结构成为起始频率的决定性因素。在牛乳铁蛋白的5侧翼区存在丰富的调控元件和蛋白结合位点,潜在

的通用转录因子结合位点(SPI/GC元件,TATA盒,CAAT盒),类固醇激素受体(雌激素,孕酮和糖皮质激素等),肽类激素介导转录因子(STAT5)和炎症因子(NF- κ B,AP1和STAT3)^[6],并且5侧翼区存在丰富的SNP,见表7。Li等^[12]采用PCR-SSCP技术对100头牛的LF基因进行研究发现,-926(G/A)、-915(T/G)、-478(/G)、-28(C/A)、+32(G/C)的突变出现在同一个体上,并且杂合子个体其相应位点均为杂合型。而在本研究中经PCR-RFLP分析并结合DNA测序技术,发现只有极少个体在-926(G/A)、-915(T/G)、-478(/G)三位点均为杂合型,-926(G/A)、-915(T/G)、-478(/G)3个位点不连锁。另外,+72(T/C)为本研究新发现的SNP,在试验牛群中+72(T/C)、-926(G/A)位点均处于Hardy-Weinberg平衡状态($P>0.05$),说明在该群体中对这两个位点的人工选择压力不强;而-915(T/G)、-478(/G)位点均处于Hardy-Weinberg不平衡状态($P<0.05$),这可能由于样本量不够大或是因为长期的人工选育造成的。以上4个位点均表现为中度多态($0.25<PIC<0.5$),适合作为性状连锁分析的候选标记。

表3 中国荷斯坦奶牛LF基因的基因型频率和等位基因频率

| 基因位点 | 基因型 | 样本数 | 基因型频率 | 等位基因 | 等位基因频率 |
|-----------|-----|-----|--------|------|--------|
| +72(T/C) | AA | 11 | 0.0632 | A | 0.1867 |
| | AB | 43 | 0.2471 | | |
| | BB | 120 | 0.6897 | | |
| -478(/G) | CC | 60 | 0.2586 | C | 0.5474 |
| | CD | 134 | 0.5776 | | |
| | DD | 38 | 0.1638 | | |
| -915(T/G) | EE | 68 | 0.3617 | E | 0.5506 |
| | EF | 71 | 0.3777 | | |
| | FF | 49 | 0.2606 | | |
| -926(G/A) | GG | 30 | 0.1463 | G | 0.3976 |
| | GH | 103 | 0.5024 | | |
| | HH | 72 | 0.3512 | | |

表4 基因座在群体中的 χ^2 检验、多态信息含量、杂合度及有效等位基因数

| 基因座位 | 卡方(χ^2) | 多态信息含量(PIC) | 杂合度(H) | 有效等位基因数(N_e) |
|-----------|----------------|-------------|--------|------------------|
| +72(T/C) | 4.4317* | 0.2520 | 0.3036 | 1.4023 |
| -478(/G) | 6.3599 | 0.3729 | 0.4956 | 1.9826 |
| -915(T/G) | 10.572 | 0.3723 | 0.4948 | 1.9113 |
| -926(G/A) | 0.4874* | 0.3707 | 0.4854 | 1.9194 |

* $P>0.05$ 。

表 5 各种因素对牛群 SCS 的影响

| 因素 | 产犊季节 | 胎次 | 场 | 基因型 | | | |
|------------|------|---------|-------|----------|---------|-----------|-----------|
| | | | | +72(T/C) | -478(G) | -915(T/G) | -926(G/A) |
| <i>F</i> 值 | 0.57 | 10.44** | 3.42* | 38.03** | 4.24* | 1.38 | 1.28 |

* $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ 。

表 6 牛 *LF* 基因不同基因型在群体中 SCS 的最小二乘均值及标准误

| 基因位点 | 基因型 | 体细胞评分(SCS)的最小二乘均值及标准误(LSM \pm SE) |
|-----------|-----|-------------------------------------|
| +72(T/C) | AA | 5.40 \pm 0.28 ^a |
| | AB | 4.70 \pm 0.25 ^B |
| | BB | 5.16 \pm 0.26 ^{ab} |
| | CC | 4.62 \pm 0.29 ^B |
| -478(G) | CD | 5.34 \pm 0.26 ^a |
| | DD | 5.87 \pm 0.44 ^a |
| | EE | 5.22 \pm 0.27 |
| | EF | 4.91 \pm 0.20 |
| -915(T/G) | FF | 4.87 \pm 0.27 |
| | GG | 3.05 \pm 0.05 |
| | GH | 3.03 \pm 0.04 |
| -926(G/A) | HH | 3.05 \pm 0.04 |

注: 肩注小写字母相同的表示差异不显著($P > 0.05$), 肩注小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$), 肩注大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

表 7 荷斯坦牛 *LF* 基因 5 侧翼区 SNPs 的发现

| 参考文献 | 位置 | | | | | | | | | | |
|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|
| | -945 | -926 | -915 | -838 | -810 | -610 | -478 | -156 | -131 | -28 | +33 |
| Syfert和Kühn ^[7] | | G | | - | - | | - | G | C | A | C |
| 张利军等 ^[11] | | G/A | T/G | C | T | | -/G | A | T | A/C | C/G |
| Li 等 ^[12] | | G/A | T/G | | | | -/G | | | A/C | C/G |
| 周磊 ^[10] | | G/A | | | | | | | | A/C | C/G |
| Daly等 ^[9] | T/C | G/A | T/G | | | G/T | -/G | A/G | T/C | A/C | |
| Kaminski等 ^[8] | | | | | | | | | | | C/G |

3.2 牛 *LF* 基因多态性与乳腺炎相关性的研究

关于牛 *LF* 基因多态性与乳腺炎相关性的报道不多, 张利军等应用 PCR-RFLP 检测 90 头奶牛 *LF* 基因 *Hinf* 基因座的研究发现, 健康牛主要为 AA 基因型、而乳腺炎发病牛主要为 BB 基因型^[12]。Li 等^[12] 研究中, 所检测的基因位点不同基因型个体的 SCS 值差异不显著。Kaminski 等^[8] 研究发现, +33(G/C) 位的 CC 基因型奶牛个体的 SCC 值最低, 其乳蛋白量值显著高于 GG 基因型个体。而在本研究中, 新发现的 +72(T/C) 位点的 AB 基因型是优良基因型, 其个体的 SCS 值均显著低于 BB 型、AA 型个体 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。-478(G) 位的 C 等位基因是优良的等位基因,

CC 基因型个体的 SCS 值极显著低于 CD、DD 基因型个体 ($P < 0.01$)。因此, 牛 *LF* 基因 AB 基因型和 CC 基因型可作为奶牛乳腺炎的抗性优良基因型, 可能在奶牛抗病性上具有重要的作用。Zheng 等^[6] 研究发现, 牛 *LF* 启动子区至 -1029 位的启动子片段活性最强, 启动子活性受 -2462/-1879 和 -1029/-75 两个区域正向调节, 而 -478(G) 突变位于正向调节区, 对 *LF* 基因的表达是否会产生影响, 以及与乳房炎的发生是否存在内在的联系, 还需进一步研究。如果能够进一步鉴定出强启动子, 可提高乳中 LF 的含量, 降低乳腺炎发生率保护奶牛健康。另外本研究采用标记效应组成的固定模型, 对 SCS 进行方差分析,

场效应及胎次效应对 SCS 影响极显著,可能不同场之间的饲养管理及挤奶程序等方面存在差异,致使乳腺炎的控制存在显著的差异,因此,应提高奶牛生产的管理水平可控制乳腺炎的发生。

综上所述,本研究发现了牛 *LF* 基因 5 侧翼区具有显著效果的 SNPs,可为进一步筛选高表达的 *LF* 个体提供有效的分子标记,并进一步应用于标记辅助选择,继而在奶牛抗病育种中进行应用,可加快奶牛的遗传进展。

参考文献(References):

- [1] Bellamy W, Takase M, Yamauchi K, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M. Identification of the bactericidal domain of lactoferrin. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1121 (1-2): 130-136.
- [2] Nibbering PH, Ravensbergen E, Welling MM, van Berkel LA, van Berkel PH, Pauwels EK, Nuijens JH. Human lactoferrin and peptides derived from its N terminus are highly effective against infections with antibiotic-resistant bacteria. *Infect Immun*, 2001, 69(3): 1469-1476. [\[DOI\]](#)
- [3] Sordillo LM, Streicher KL. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2002, 7(2): 135-146. [\[DOI\]](#)
- [4] Hirvonen J, Eklund K, Teppo AM, Huszenicza G, Kulcsar M, Saloniemi H, Pyörälä S. Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Acta Vet Scand*, 1999, 40(1): 35-46.
- [5] Molenaar AJ, Kuys YM, Davis SR, Wilkins RJ, Mead PE, Tweedie JW. Elevation of lactoferrin gene expression in developing, ductal, resting, and regressing parenchymal epithelium of the ruminant mammary gland. *J Dairy Sci*, 1996, 79(7): 1198-1208.
- [6] Zheng J, Ather JL, Sonstegard TS, Kerr DE. Characterization of the infection-responsive bovine lactoferrin promoter. *Gene*, 2005, 353(1): 107-117. [\[DOI\]](#)
- [7] Seyfert HM, Kühn C. Characterization of a first bovine lactoferrin gene variant, based on an *EcoR* I polymorphism. *Anim Genet*, 1994, 25(1): 541.
- [8] Kaminski S, Olenski K, Brym P, Malewski T, Sazanov AA. Single nucleotide polymorphism in the promoter region of the lactoferrin gene and its associations with milk performance traits in polish Holstein-friesian cows. *Genetika*, 2006, 42(8): 1117-1120. [\[DOI\]](#)
- [9] Daly M, Ross P, Giblin L, Buckley F. Polymorphisms within the lactoferrin gene promoter in various cattle breeds. *Anim Biotechnol*, 2006, 17(1): 33-42.
- [10] 周磊. bLF 基因部分序列的 PCR-SSCP 分析及其作为乳腺炎抗性分子标记的可行性研究 [学位论文]. 南京农业大学, 2006.
- [11] 张利军, 蔡亚非, 刘庆华, 宋维龙, 李莲, 王根林. 奶牛乳铁蛋白基因启动子区 PCR-RFLP 分析与乳房炎的相关性. 福建农林大学学报, 2005, 34(1): 84-91.
- [12] Li GH, Zhang Y, Sun DX, Li N. Study on the polymorphism of bovine lactoferrin gene and its relationship with mastitis. *Animal Biotechnol*, 2004, 15(1): 67-76. [\[DOI\]](#)
- [13] 李国华, 张沅, 孙东晓, 李宁. 奶牛乳铁蛋白基因 5 侧翼区 PCR-SSCP 多态性分析. 遗传, 2004, 26(6): 827-830.

•遗传咨询•

先天性髋关节脱位遗传吗?

问: 我和太太都正常, 可生的女儿患有先天性髋关节脱位, 请问这种病遗传吗? 遗传概率怎样?

答: 先天性髋关节脱位 (Congenital Dysplasia of the Hip, CDH) 是小儿比较常见的先天性畸形之一, 约 20% 有家族史, 发病率以女孩占绝对优势, 我国统计男女之比为 1: 4~6。先天性髋关节脱位的病因至今尚未完全明确, 可能与遗传因素、髋臼发育不良及关节韧带松弛, 以及胎儿在子宫内胎位异常等因素相关, 属于多基因遗传, 该病群体发病率约为 0.2%, 不同地区有较明显差别, 遗传度为 70%。患者所生子女男性发病几率为 4%, 女性为 1%。早期诊断和治疗对本病预后非常重要。