

黑线仓鼠 FSH β 基因外显子 3 部分序列的克隆与分析

靳鹏 张菲菲 解学辉 王洪伟 徐来祥*

(曲阜师范大学生命科学院 273165 曲阜)

摘要: 根据 GenBank 数据库中黑线仓鼠 (*Cricetulus barabensis*) 同源物种的 FSH β 基因设计引物, 利用 PCR 法在山东省沂南、临朐和曲阜 3 个地理种群随机选取的黑线仓鼠个体中克隆出 FSH β 基因的部分外显子 3, 序列长度为 775 bp (GenBank 登录号: GQ456067)。该序列与其他物种相应区域的同源性比较结果显示: 黑线仓鼠与人 (*Homo sapiens*)、大鼠 (*Rattus norvegicus*)、小鼠 (*Mus musculus*)、黑猩猩 (*Pan troglodytes*)、羊 (*Ovis aries*) 等物种核苷酸序列的同源性为 80% ~ 96%, 氨基酸序列的同源性为 79% ~ 100%。系统进化分析结果与物种亲缘关系的远近一致, 说明该研究所得到的 FSH β 基因序列可作为研究物种亲缘关系或遗传距离的理想标记。

关键词: 黑线仓鼠; FSH β 基因; 克隆; 序列分析; 外显子 3

中图分类号: Q951 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2010)02-60-09

Cloning and Sequencing of Partial Exon 3 of FSH β Gene in *Cricetulus barabensis*

JIN Peng ZHANG Fei-Fei XIE Xue-Hui WANG Hong-Wei XU Lai-Xiang*

(College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

Abstract: Primers were designed according to the GenBank sequence of FSH β gene of the homologous species of *Cricetulus barabensis*. Partial sequence of exon 3 in FSH β gene was cloned by PCR method from random samples of *C. barabensis* in Yinan, Linqu and Qufu, Shandong Province. It is 775 bp and its accession number in GenBank is GQ456067. The homologies of nucleotide and amino acid are 80% - 96% and 79% - 100% respectively when compared with the same region sequence of *Homo sapiens*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Pan troglodytes*, and *Ovis aries*. The result of the phylogenetic evolution analysis by FSH β sequence is in consistent with the relative species relationship, and therefore the sequence of FSH β gene could be used as an ideal marker to study the species relationships or hereditary distance.

Key words: *Cricetulus barabensis*; FSH β ; Molecular cloning; Sequence analysis; Exon 3

卵泡刺激素, 亦称促卵泡素 (follicle stimulating hormone, FSH) 是由动物垂体前叶嗜碱性细胞合成和分泌的一种糖蛋白激素, 与促黄体素 (luteinizing hormone, LH) 一起作用于性腺, 具有促进动物性成熟和保持周期性繁殖的能力^[1]。目前已研究过 FSH β 亚基基因的哺乳动物中, 发现此基因均为单拷贝基因^[2], 由 3 个

外显子和 2 个内含子组成, 外显子 1 不编码, 外

基金项目 国家 973 计划项目 (No. 2007CB109104) 和国家自然科学基金项目 (No. 30470247, 30670335);

* 通讯作者, E-mail: xulx@mail.qfnu.edu.cn;

第一作者介绍 靳鹏, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物分子生物学; E-mail: jin101614@163.com.

收稿日期: 2009-08-19, 修回日期: 2010-01-04

显子 2 和外显子 3 部分序列编码^[3]。FSH 基因由 α 和 β 两个亚基组成, β 亚基是功能亚基, 激素生理功能的特异性由 β 亚基决定^[4]。该激素对于雌性可促进卵泡内膜细胞分化、颗粒细胞增生和卵泡液的分泌^[5], 抑制卵泡闭锁和颗粒细胞凋亡^[6]; 对于雄性可刺激支持细胞生长、增殖、成熟, 促进副性腺的发育和精子的成熟^[7-8]。对猪 (*Sus scrofa*)^[9-10] 和羊 (*Ovis aries*)^[11-12] 等家畜的研究发现, 高繁殖力品种的个体血浆中有较高浓度的 FSH, 而且对牛 (*Bubalus bubalis*)、羊的研究已证实抑制素所引起的排卵率的增加最终归因于 FSH 浓度的上升^[13-14]。到目前为止, 在猪、羊、牛和马 (*Equus caballus*) 等动物中 FSH β 基因的研究比较深入^[15-18], 而有关 FSH β 基因在黑线仓鼠 (*Cricetulus barabensis*) 中的克隆、序列分析、与胎仔数性状的关联以及不同地理种群之间遗传多态性分析的研究少有报道。黑线仓鼠俗称纹背仓鼠、花背仓鼠和小腮鼠等, 隶属啮齿目 (Rodentia) 仓鼠科 (Cricetidae) 仓鼠属。20 世纪 90 年代, 黑线仓鼠是黄河流域和豫北、豫东平原农田害鼠的优势种, 占野生农田害鼠总量的 40% 以上^[19]。黑线仓鼠繁殖力强, 3~4 月和 8~9 月为两个繁殖高峰期, 年繁殖 3~5 胎, 每胎平均 4~9 只^[20]。由于黑线仓鼠对农作物危害特别大, 已经引起人们越来越多的关注。已有学者对黑线仓鼠该基因的外显子 1、2 进行了克隆和序列分析^[21]; 外显子 3 编码 67.5% 的氨基酸, 在人 (*Homo sapiens*)^[22]、大熊猫 (*Ailuropodidae melanoleuca*)^[23] 和羊^[11] 等物种中已发现, 外显子 3 的编码区存在剪辑突变引起的编码氨基酸的改变, 有的会进一步影响 FSH 的分泌^[24]。通过对 FSH β 基因外显子 3 的研究, 期望可以为揭示黑线仓鼠的种群暴发机制提供一些支持, 有关黑线仓鼠产仔数的研究正在进行中, 拟另文阐述。因此本研究主要针对黑线仓鼠的 FSH β 基因外显子 3 展开。为深入研究黑线仓鼠 FSH β 基因, 以及该基因对黑线仓鼠在生殖方面的意义积累一定的分子生物学数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和基因组 DNA 提取 用铁笼活捕法在山东省临沂市沂南县蒲汪镇瓦插檐村 (118.66°E, 35.51°N) 和湖头镇 (118.40°E, 35.60°N) 的小麦田中, 潍坊市临朐县上林镇 (118.69°E, 36.55°N) 的小麦田, 曲阜市吴村镇九仙山风景区 (117.02°E, 35.75°N) 周围花生地及果园, 各捕获黑线仓鼠 30 只, 共 90 只。乙醚麻醉处死后取其肝, 立刻保存于 -70℃ 冰箱, 备用。

肝组织基因组 DNA 采用酚/酚-氯仿 (1:1)/氯仿的方法抽提, 提取后的 DNA 用 TE 溶解, 经紫外分光光度计检测 OD 值符合标准, -20℃ 保存备用。

1.2 引物设计 根据 GenBank 数据库中黑线仓鼠同源物种金仓鼠 (*Mesocricetus auratus*)、黑线毛足鼠 (*Phodopus sungorus*)、灰仓鼠 (*C. migratorius*)、大鼠 (*Rattus norvegicus*)、小鼠 (*Mus musculus*) (GenBank 登录号: AY376457、AB252645、AB235911、BC168724、NM 008045) 的 FSH β 基因, 利用 Primer 5.0 软件设计特异性引物, 扩增黑线仓鼠 FSH β 的外显子 3 序列。引物由北京三博远志生物技术有限公司合成。上游: 5' AGACCCAATACCCAGAAAATA 3'; 下游: 5' GAGTAGAATGTAGCCTGACCT 3'。

1.3 DNA 扩增 PCR 反应体系: 10 × PCR buffer 2.5 μ l, MgCl₂ (25 mmol/L) 2.0 μ l, dNTPs 1.5 μ l, 引物 (10 pmol/ μ l) 各 1 μ l, Taq DNA 聚合酶 0.2 μ l, DNA 模板约 40 ng (1.5 μ l), ddH₂O 补足至 25 μ l。

PCR 扩增程序: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 57℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 最后再 72℃ 延伸 10 min。

PCR 产物用 2.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 按照回收试剂盒 (TakaRa) 说明书回收特异条带。取 3 μ l 回收液, 用 1.0% 的琼脂糖凝胶检测, 若结果理想, 可立即使用或 -20℃ 保存备用。

1.4 克隆测序 将回收的 PCR 产物与

pMD18-T 载体连接,转化到 $CaCl_2$ 法制备的大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中。筛选阳性克隆,摇菌,将克隆成功的阳性菌液保存于甘油管中,于 $-70^\circ C$ 保存。取 100 μl 菌液,送北京三博远志生物技术有限公司进行测序。

1.5 数据处理分析 序列经 Chromos 软件分析后,将手工校对后的序列用 Clustal X 和 DNAMAN 软件进行多重比对,利用 DnaSP 4.0 软件校正序列长度并转换格式,使用 MEGA

3.1 软件进行系统树的构建并进行物种间的 UPGMA 聚类分析。

2 结果与分析

2.1 黑线仓鼠 FSH β 基因的 PCR 扩增结果

PCR 产物经 2.0% 的琼脂糖凝胶 80 V 电压电泳后,于紫外透射仪上观察,在 750 bp 左右出现一条清晰的 DNA 条带(图 1)。

2.2 序列测定与分析

经北京三博远志生物技术有限公司测序得到的序列使用 Chromos 软件,经手工校对并进行多重比对后,得到 775 bp 的部分外显子 3 的序列(图 2),在 GenBank 上注册,登录号为 GQ456067。经 NCBI 对比, BioEdit 翻译发现,该序列由第 1 位碱基开始编码,共编码 68 个氨基酸。

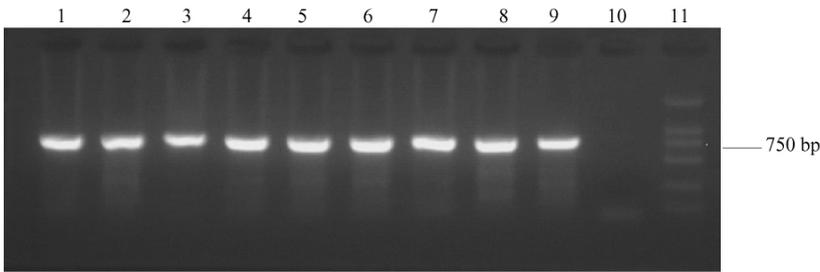


图 1 黑线仓鼠部分样本 FSH β 基因外显子 3 的 PCR 扩增电泳图谱

Fig. 1 PCR amplification of FSH β exon 3 gene in different individuals of *Cricetulus barabensis*

1~9:不同个体扩增产物; 10:阴性对照; 11:DL2000 DNA 分子量标准。

1-9: Amplified products; 10: Negative control; 11: DL2000 DNA marker.

```

1      agaccocaataccagaaaaatgacacctcaaggagctgggtatgaaaccataaaaactg
      R P N T Q K I C T F K E L V Y E T I K L
61     cctggctgtgctcaccactcagactccctctacacataccagtagccaccggatgtcac
      P G C A H H S D S L Y T Y P V A T G C H
121    tgtggcaagtgtgacagcgacagcactgactgcactgtgagagcttggaccagactac
      C G K C D S D S T D C T V R G L G P S Y
181    tgtcctctcggtgaaatgaacgaataaagaacaatggacatttcagttcgccacccttg
      C S F G E M N E *
241    tctgaaggaccacggatccaaaatgtctgtctgctctgtgctgggctgcaaacccac
301    tggctaagggaaccatccatccactgtcccgtgagaccaccgttctgacagggaaagagga
361    gctcaggactgggagtagtctggggccaggactctaccaccactcattcctctatccatact
421    gttggttacctaagttttattcactctcaactcagacttctgtgagagctttcctcctca
481    acaatcttagaacatctagggtatcccttctctttagacagaggaatcatgatgttca
541    gagggagggaagggaagtggagctgtgaaaggactccatctagcacaatcttcgccta
601    gactttagagacaacagaatgattgcaaatitaaggcccaactctgcatggaataaat
661    ggaaaattctatggcttcttaaggaaaagaagagcagacatgcocacatgcagggaatg
721    ctgctgtagctggctgaggaaagctggccttgaaaggctcaggctacattctactc

```

图 2 FSH β 基因外显子 3 部分核苷酸序列和氨基酸序列

Fig. 2 Partial nucleotide and amino acid sequences of FSH β exon 3 in *Cricetulus barabensis*

大写字母:氨基酸序列;小写字母:核苷酸序列;* :终止密码子。

Uppercase: Amino acid; Lowercase: Nucleotide; * :Termination codon.

在该 775 bp 的序列中 A 碱基占 28. %、G 碱基占 23. 48%、C 碱基占 25. 55%、T 碱基占 22. 97% ,A + T 占 50. 97%、G + C 占 49. 03% ,A + T 含量高于 G + C 含量。编码区 A + T 占 48. 31%、G + C 占 51. 69% ,非编码区 A + T 占 52. 03%、G + C 占 47. 97%。编码区的 G + C 含量高于非编码区。

对扩增所得到的 90 个个体进行比对分析 ,

发现有 5 个个体在位于扩增序列的 328 ~ 343 bp 处有 16 bp 的缺失序列 (图 3) ,这些序列位于编码区下游 123 bp 处 ,不影响蛋白质的转录长度。测定序列的 1 ~ 207 bp 为编码区 ,发现在编码区 162 bp 处有 A-G 的颠换 ,但不影响蛋白质翻译 ;167 bp 处有 T-C 的颠换 (图 4) ,会引起氨基酸从亮氨酸 (L) 到丝氨酸 (S) 的转变 ,在非编码区有 9 处突变位点。

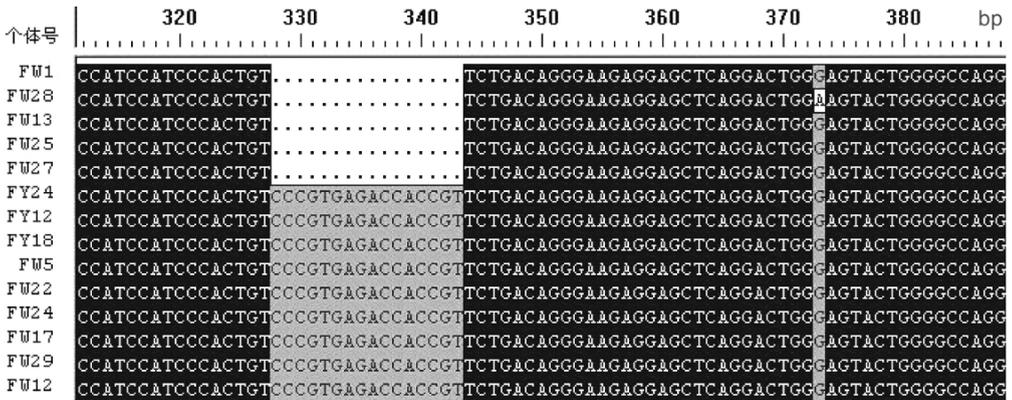


图 3 不同个体 FSH β 基因缺失片段比较分析

Fig. 3 Comparison of deletion fragments of FSH β gene from different samples

标尺:核苷酸序列;“.”:缺失的核苷酸序列;每一行为不同个体的部分核苷酸序列;

黑色:所有个体均无变异的碱基位点;灰色:部分个体产生变异的碱基位点。

Measure scale: Nucleotide sequence; “.”: The loss of nucleotide sequence; Each line shows partial nucleotide sequence of different sample; Black: No variation of basic site in all samples; Gray: Variation of basic site in partial samples.

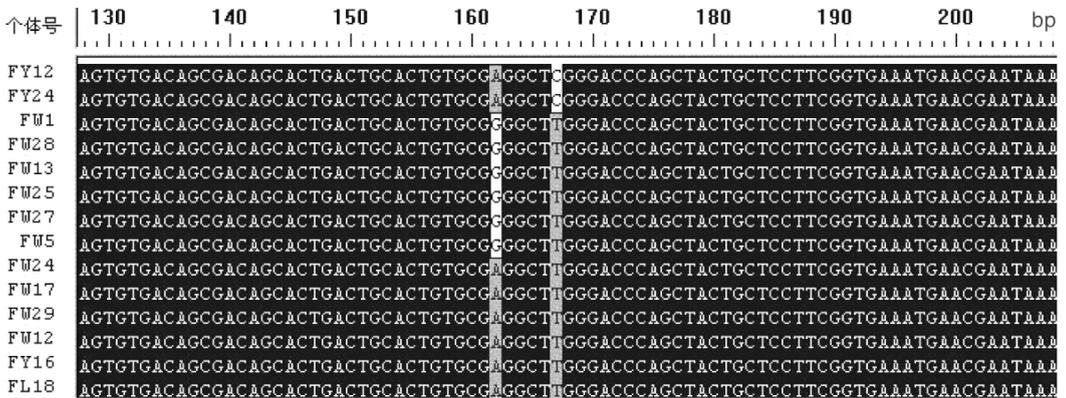


图 4 不同个体 FSH β 基因编码区突变位点比较

Fig. 4 Comparison of mutant site in coding region of FSH β gene from different samples

标尺:核苷酸序列;每一行为不同个体的部分核苷酸序列;黑色:所有个体均无变异的碱基位点;

灰色:部分个体产生变异的碱基位点。

Measure scale: Nucleotide sequence; Each line shows partial nucleotide sequence of different sample;

Black: No variation of basic site in all samples; Gray: Variation of basic site in partial samples.

2.3 物种间的序列比较 利用 DNAMAN 软件 比对黑线仓鼠与人、大鼠、小鼠、猪、牛、兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 等物种 FSH β 基因外显

子 3 相应区域的核苷酸序列与氨基酸序列的同源性(表 1)。

表 1 黑线仓鼠与其他物种 FSH β 基因外显子 3 相应核苷酸序列及氨基酸序列的同源性比较

Table 1 Homologous comparison of FSH β exon 3 gene nucleotide and amino acid sequences between *Cricetulus barabensis* and other species

Table with 5 columns: Species, GenBank Accession No (Protein/Amino acid, Nucleotide), and Identities (%) (Nucleotide/Amino acid). Rows list various species like Mesocricetus auratus, Phodopus sungorus, etc.

从表 1 可知,不同物种间 FSH β 基因外显子 3 的核苷酸序列同源性差异较小,其变异范围为 80% ~ 96%。其中黑线仓鼠与灰仓鼠、长爪沙鼠、黑线毛足鼠之间的核苷酸序列同源性较高,分别是 96%、94% 和 89%。不同物种的氨基酸序列同源性差异也较小,其中黑线仓鼠与灰仓鼠、金仓鼠、黑线毛足鼠之间的氨基酸序列同源性较高,分别为 100%、92% 和 92%。

氨基酸序列经 DNA Club 软件分析与人

类 FSH β 的氨基酸序列(GenBank 登录号: NP_001018090.1)比较(图 5),黑线仓鼠不同种群的个体中该编码区域的第 56 位氨基酸有 L 和 S 两种,而人类只有 L 一种,该位点为 SNP 位点,如图中(s)所示氨基酸从亮氨酸(L)到丝氨酸(S)的突变。另外 9 处氨基酸为黑线仓鼠和人类的差异位点。因本实验所得到的序列不包括前 61 个氨基酸,所以对应人的氨基酸从第 62 个开始。

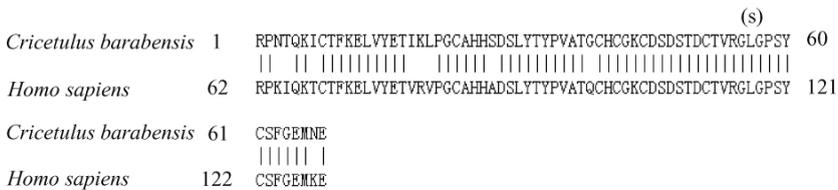


图 5 黑线仓鼠与人类部分 FSH β 氨基酸的比较分析

Fig. 5 Comparison of FSH β partial amino acid sequences between Cricetulus barabensis and Homo sapiens

Cricetulus barabensis: 黑线仓鼠; Homo sapiens: 人;

有“|”表示人与黑线仓鼠的氨基酸相同,没有则表示不同; (s): 不同个体的黑线仓鼠之间出现突变的氨基酸位点。

“|” means amino acids of Homo sapiens and Cricetulus barabensis are the same; (s): represents mutation

of amino acid site in different individuals of Cricetulus barabensis.

2.4 黑线仓鼠与人、大鼠、小鼠、猪等物种的系统进化分析 在所有扩增的个体中选取单倍型数量最多的黑线仓鼠序列,根据黑线仓鼠、人、大鼠、小鼠、猪、牛、兔等物种的 FSH β 基因外显子 3 的序列,利用 DnaSP 4.0 软件进行序列比对后,经 MEGA 3.1 软件初步分析,构建上述物种的系统进化树(图 6、7),并对它们进行

UPGMA 聚类分析(图 8)。

由图 6、7 可以看出,黑线仓鼠与灰仓鼠、金仓鼠、黑线毛足鼠等野生鼠亲缘关系较近,与大猩猩、猪、羊等哺乳动物亲缘关系较远。ME 聚类和 NJ 聚类图结果一致,表明实验结果具有一定的可信性。

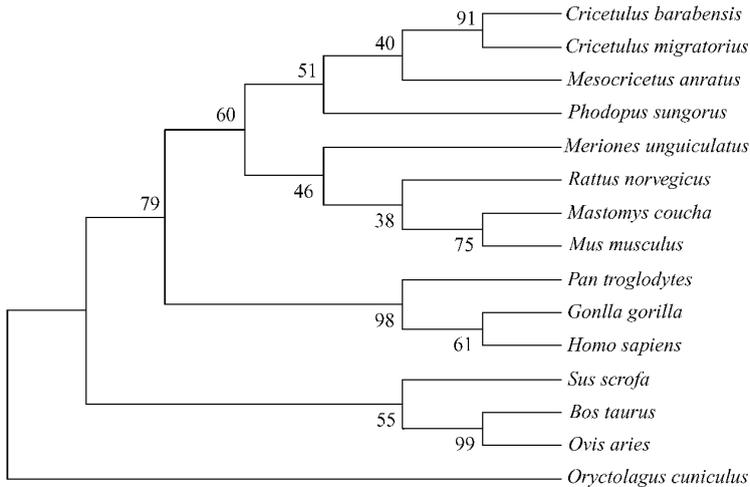


图 6 基于物种间的 FSH β 基因外显子 3 的部分序列构建的 ME 系统树

Fig. 6 Minimum-evolution tree based on partial sequences of FSH β exon 3 gene from different species

枝上的数字为自展值,Bootstrap 的重复数为 1 000; *Bos taurus*:牛; *Ovis aries*:羊; *Oryctolagus cuniculus*:兔; *Sus scrofa*:猪; *Pan troglodytes*:黑猩猩; *Phodopus sungorus*:黑线毛足鼠; *Gorilla gorilla*:大猩猩; *Meriones unguiculatus*:长抓沙鼠; *Cricetulus barabensis*:黑线仓鼠; *Cricetulus migratorius*:灰仓鼠; *Mesocricetus auratus*:金仓鼠; *Mastomys coucha*:乳鼠; *Mus musculus*:小鼠; *Rattus norvegicus*:大鼠; *Homo sapiens*:人; 后图同。

The numbers below or above the branches are Bootstrap values, the repetition of Bootstrap is 1 000; As same as the following fig.

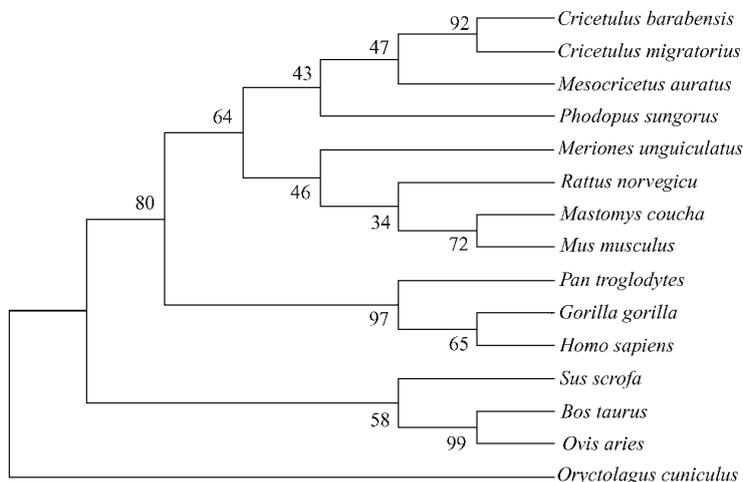


图 7 基于物种间的 FSH β 基因外显子 3 的部分序列构建的 NJ 系统树

Fig. 7 Neighbor-joining tree based on partial sequences of FSH β exon 3 gene from different species

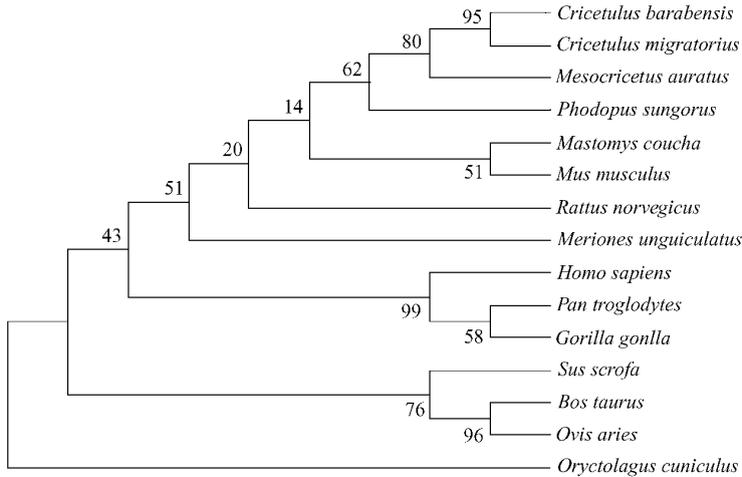


图 8 基于物种间的 FSH β 基因外显子 3 的部分序列构建的 UPGMA 树

Fig. 8 UPGMA tree based on partial sequences of FSH β exon 3 gene from different species

3 讨论

3.1 编码区的 G + C 含量 本研究克隆得到的序列中, 编码区 G + C 占 51.69%, 非编码区 G + C 占 47.97%。编码区的 G + C 含量高于非编码区。而编码区密码子以 G/C 结尾的占 61.8%, 比全序列高出 10 个百分点。这表明大多数密码子以 G/C 结尾, 这可能有利于提高翻译的准确性^[25], 以维持 FSH β 亚基的稳定性和重要功能。根据 GenBank 中已发表的物种牛、羊、人、小鼠、大鼠和猪的外显子 3 序列计算 G + C 含量, 发现含量从低到高依次是牛、羊、人、小鼠、黑线仓鼠、大鼠和猪, 哺乳动物中 G + C 含量有随单胎到多胎的物种变化而递增的趋势。这与一些文献的结论一致^[26]。

3.2 系统进化分析 现在已有很多统计方法用于分子数据来重建系统发育树, 但由于真树常常是不知道的, 因而难以判断在某一具体情况下哪种方法最佳, 得到最接近真实结果的系统关系^[27]。因此, 在利用功能基因进行物种间的系统发育分析时, 一个基因片段要利用多种方法构建进化树并进行检验, 同时应尽量从形态学、生态学、遗传学、地理学等多学科角度进行综合研究, 才能得到比较真实的所研究类群的起源演化过程^[28]。因此, 本研究中使用了

ME、NJ 和 UPGMA 等聚类方法, 进行多种进化分析。由图 6 ~ 8 可以看出 8 种鼠先进行聚类, 再与其他哺乳动物聚类, 几种系统进化分析结果基本是一致的, 符合物种亲缘关系的远近, 证明得到的 FSH β 基因序列可用作研究物种亲缘关系或遗传距离的一种标记。3 种系统树中都有部分自展值较低, 其可能的原因是系统树的构建受很多因素的影响, 例如所选择的分子标记、物种、分析软件以及计算方法等, 而且分子钟本身存在一些误差; 有学者认为在更多的基因介入下可能会解决这个问题^[29-30]。

3.3 碱基与氨基酸突变 目前已知人的 FSH β 基因突变发生在外显子 3 上, 羊 FSH β 基因外显子 3 下游有 2 kb 的插入缺失多态性, 它不影响基因转录产物的大小, 但使转录活性显著提高^[31]。在猪的研究中, 赵要风、杜立新等人发现猪的 FSH β 基因中存在 0.3 kb 的插入缺失, 并且存在插入片段的 AA 型纯合子母猪要比 BB 型纯合子每胎多产仔 1.2 ~ 1.5 头^[32-33]。本实验所发现的 16 bp 缺失现象是否会对黑线仓鼠的产仔数产生影响还有待于进一步研究。

大熊猫中外显子 3 编码的第 55 和 58 位氨基酸有明显变异^[23]。本实验测定的外显子 3 存在 11 处碱基突变, 其中两处是在编码区, 只有

一处会引起氨基酸的改变。说明同其他动物一样黑线仓鼠 FSH β 基因外显子 3 也具有较高的碱基突变率。

本实验发现的氨基酸突变位点位于倒数第 13 个氨基酸上,与人类的 FSH β 亚基氨基酸相比对,突变位点在人类 FSH β 的 β -Seat belt 结构域中^[34](图 5)。该结构域在人类 FSH β 中的功能是 FSH β 亚基与 α 亚基结合的特异性区域。由此推断本实验所发现的由碱基突变引起的氨基酸突变可能会引起 β 亚基与 α 亚基无法结合。

目前国内外学者探讨控制经济动物产仔数相关基因的研究已有不少报道^[35],但对黑线仓鼠产仔数相关基因的研究少有报道。本研究借助在开展猪、羊、牛等家畜育种过程中所选定的与动物产仔数有关联的基因^[36-37],设计特异性引物,对黑线仓鼠的基因组 DNA 进行序列扩增,通过比较不同物种之间的同源性,初步认识了黑线仓鼠 FSH β 基因外显子 3,并且发现其存在碱基突变引起的编码氨基酸的改变。本研究推断的这些可能的变化是否真正引起黑线仓鼠 FSH β 的分子结构变化和分泌模式分泌量的变化,从而最终引起黑线仓鼠繁殖性能的变化有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Marshall J C, Kelch R P. GnRH. role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction. *New England Journal of Medicine*, 1986, 315: 1459 - 1468.
- [2] Guzman K. The gene encoding ovine follicle-stimulating hormone β : isolation characterization, and comparison to a related ovine genomic sequence. *DNA Cell Biology*, 1991, 10: 593.
- [3] Clark A D, Layman L C. Analysis of the Cys82Arg mutation in follicle-stimulating hormone beta (FSH β) using a novel FSH expression vector. *Fertility and Sterility*, 2003, 79(2): 379 - 385.
- [4] Pierce J G, Parsons T F. Glycoprotein hormones: structure and function. *Annu Rev Biochem*, 1981, 50: 465 - 495.
- [5] Silva J M, Christopher A P. Effect of follicle-stimulating hormone on steroid secretion and messenger ribonucleic acids encoding cytochromes P450 aromatase and cholesterol side-chain cleavage in bovine granulosa cells *in vitro*. *Biol Reprod*, 2000, 62: 186 - 191.
- [6] Maizels E T, Cottom J, Jones J R, et al. Follicle stimulating hormone (FSH) activates the p38 mitogen-activated protein kinase pathway, inducing small heat shock protein phosphorylation and cell rounding in immature rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, 1998, 139(7): 789 - 796.
- [7] 杨筱珍,陈耀星,王子旭,等. 生殖激素对雄性生殖细胞凋亡调控的研究进展. *动物医学进展*, 2003, 24(6): 7 - 10.
- [8] Layman L C, McDonough P G. Mutations of follicle stimulating hormone β and its receptor in human and mouse: genotype/phenotype. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 161(1): 9 - 17.
- [9] Prunier A, Chopineau M. Sexual maturation of Meishan gilts. *Toulouse France: Chinese Pig Symposium*, 1990, 37 - 40.
- [10] 焦淑贤,王瑞祥,蔡正华,等. 枫泾和长白青年母猪首次发情周期内血清中 5 种生殖激素的变化. *畜牧兽医学报*, 1993, 23(3): 202 - 206.
- [11] Montgomery G W, McNatty K P, Davis G H. Physiology and molecular genetics of mutations that increase ovulation rate in sheep. *Endocrine Reviews*, 1992, 13: 309 - 328.
- [12] 郑亦辉,张德福,马恒东. 湖羊和美利奴羊发情期外周血浆中促性腺激素脉冲分泌的差异. *中国畜牧杂志*, 1991, 27(2): 23 - 24.
- [13] Al-Obaidi S A R, Bindon B M, Findlay J K, et al. Plasma follicle stimulating hormone in Merino ewes immunized with an inhibin-enriched fraction from bovine follicular fluid. *Animal Reproduction Science*, 1987, 14: 39 - 51.
- [14] Cummins L J, O'Shea T, AlObaidi S A, et al. Increase in ovulation rate after immunization of Merino ewes with a fraction of bovine follicular fluid containing inhibin activity. *J Reprod Fertil*, 1986, 77(2): 365 - 372.
- [15] 蒋岸岸,李学伟. 猪 FSH β 亚基基因的研究进展 *安徽农业科学*, 2005, 33(5): 913 - 914.
- [16] 梁琛,储明星,张建海,等. FSH β 基因 PCR-SSCP 多态性及其与济宁青山羊高繁殖力关系的研究. *遗传*, 2006, 28(9): 1071 - 1077.
- [17] Maurer R A, Beck A. Isolation and nucleotide sequences analysis of a cloned cDNA encoding the beta-subunit of bovine follicle-stimulating hormone. *DNA*, 1986, 5: 363 - 369.
- [18] Saneyoshi T, Min K S, Jing Ma X, et al. Equine follicle-stimulating hormone: molecular cloning of beta subunit and

- biological role of the asparagines-linked oligosaccharide at asparagines (56) of alpha subunit. *Biol Reprod* 2001 ,65 (6) : 1686 - 1690.
- [19] 吕国强,孟光,蒋化民.黑线仓鼠发生与防治研究初报.植物保护,1991,17(4):37-38.
- [20] 穆成旺,任维新.黑线仓鼠的生物学特性及防治研究.甘肃农业科技,1999,(1):39.
- [21] 张菲菲,秦桢,薛慧良,等.黑线仓鼠 FSH β 亚基因部分序列克隆与遗传多态性分析.中国的遗传学研究:中国遗传学会第八次代表大会暨学术讨论会论文摘要汇编.2008,10,253.
- [22] Axel P N, Huhtaniemi T T. Mutation of gonadotropins and gonadotropin receptors; elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocrine Reviews*, 1990, 59(2) : 167 - 173.
- [23] Liao M J, Zhu M Y, Zhang Z H, et al. Cloning and sequence analysis of FSH and LH in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Anim Reprod Sci*, 2003, 77 (1/2) : 107 - 106.
- [24] Gharib S D, Roy A, Wierman M E, et al. Isolation and characterization of the gene encoding the beta-subunit of rat follicle-stimulating hormone. *DNA*, 1989, 8(5) : 339 - 349.
- [25] 石秀凡,黄京飞,柳树群,等.人类基因同义密码子偏好的特征以及与基因 GC 含量的关系.生物化学与生物物理进展,2002,29(3):411-414.
- [26] 李利,张红平,吴登俊.20个山羊品种 FSH β 基因部分序列测定及与其它8个物种的序列比较分析.畜牧兽医学报,2007,38(3):225-231.
- [27] Felsenstein J. Phylogenies from molecular sequences: Inference and reliability. *Annu Rev Genet*, 1988, 22: 521 - 565.
- [28] 张淑霞,杨岚,杨君兴.近代鸟类分类与系统发育研究.动物分类学报,2004,29(4):675-682.
- [29] 施燕峰,单祥年,李健.基于线粒体基因组探讨鲸偶蹄类七种动物的系统发育关系.动物学研究,2003,24(5):331-336.
- [30] 殷先兵,郝家胜,许丽.基于线粒体 ND1 和 COI 基因序列探讨锯眼蝶亚科主要类群的系统发生关系.动物学研究,2007,28(5):477-484.
- [31] Montgomery G W, Sise J A, Greenwood P J, et al. The Booroola F gene mutation in sheep is not located close to the FSH-beta gene. *J Mol Endocrinol*, 1990, 5(2) : 167 - 173.
- [32] 赵要风,李宁,肖璐,等.猪 FSH β 亚基因结构区逆转座子插入突变及其与猪产仔数关系的研究.中国科学:C辑,1999,(1):81-86.
- [33] 杜立新,柳淑芳,闫艳春,等.猪 FSH β 亚基因结构区 Alu 序列插入突变的研究.遗传学报,2002,29(11):977-982.
- [34] Dias J A, Lindau-Shepard B, Hauer C, et al. Human follicle-stimulating hormone structure-activity relationships. *Bio Reprod*, 1998, 58: 1331 - 1336
- [35] 施启顺,柳小春,刘志伟,等.5个与猪产仔数相关基因的效应分析.遗传,2006,28(6):652-658.
- [36] 储明星.猪产仔性状候选基因研究进展.畜牧与兽医,2001,33(1):360-37.
- [37] 张淑君,熊远著,邓昌彦,等.卵泡刺激素受体基因作为产仔数候选基因的研究.华中农业大学学报,2002,21(6):506-508.