

无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因分离、表达及其蛋白功能分析*

王世雄^{1#}, 张霞^{2#}, 霍海龙¹, 豆腾飞², 贾俊静²,
刘丽仙^{1,2}, 汪善荣^{3**}, 徐志强^{2**}

(1. 云南农业职业技术学院 畜牧兽医学院, 云南 昆明 650031;

2. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201;

3. 云南农业大学 学报编辑部, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】揭示无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因的结构与功能。【方法】采用 RT-PCR 法克隆了无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因的编码区全序列, 并利用生物信息学方法对无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因编码产物的理化特性、结构及功能进行了初步分析, 最后采用实时荧光定量分析其组织表达情况。【结果】本研究获得的无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因编码区全长为 2 082 bp, 编码 693 个氨基酸。生物信息学预测显示: 无量山乌骨鸡 *FSHR* 无 N-端信号肽。该蛋白含有 3 个保守结构域、7 个跨膜区和 6 种功能活性位点。无量山乌骨鸡 *FSHR* 二级结构主要由无规则卷曲和 α 螺旋构成, 分别占 35.50% 和 31.17%。氨基酸序列比对显示: 无量山乌骨鸡 *FSHR* 与其他禽类的同源性在 87.4% 以上。荧光定量结果显示: 该基因在性腺组织中表达量最高, 说明该基因与生产性能、繁殖性能等有关。【结论】*FSHR* 属于 G 蛋白偶联受体家族, 可介导促卵泡作用的发生, 可能在转运和结合、信号转导、修饰加工等过程中发挥重要作用。

关键词: 无量山乌骨鸡; 促卵泡素受体; 表达; 生物信息学分析

中图分类号: S 831.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X(2018)05-0850-08

Isolation and Expression of *FSHR* Gene and Its Protein Function Analysis in Wuliangshan Silky Chicken

WANG Shixiong¹, ZHANG Xia², HUO Hailong¹, DOU Tengfei²,
JIA Junjing², LIU Lixian^{1,2}, WANG Shanrong³, XU Zhiqiang²

(1. Institute of Animal Husbandry, Yunnan Vocational and Technical College of Agriculture, Kunming 650031, China;

2. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

3. Editorial Department of Journal of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] Our aim was to reveal the structure and function of Wuliangshan silky chicken *FSHR* gene. [Method] The whole coding sequence (CDS) of the *FSHR* gene was cloned using

收稿日期: 2018-01-08

修回日期: 2018-04-25

网络出版时间: 2018-10-11

*基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2015Y616); “十三五”农村领域国家科技计划项目(2015BAD03B03-4); 国家自然科学基金委项目(U1702232, 31560618, 31572359); 云南省科技计划重点项目(2016FA046); 云南省科技厅南希莱恩院士工作站(2017IC048)。

作者简介: #对本文贡献等同, 为并列第一作者。王世雄(1963—), 男, 云南嵩明人, 本科, 副教授, 主要从事动物科学研究。E-mail: 476229943@qq.com; 张霞(1990—), 女, 山西宁武人, 在读博士研究生, 主要从事动物遗传育种研究。E-mail: xiazhang1425@163.com

**通信作者 Corresponding authors: 汪善荣(1967—), 男, 安徽寿县人, 硕士, 副编审, 主要从事农业资源研究。E-mail: 651760107@qq.com; 徐志强(1974—), 男, 云南宣威人, 博士, 副教授, 主要从事动物产品安全和质量控制研究。E-mail: 791107187@qq.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201801016](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201801016)

RT-PCR method, its tissue expression was studied by real-time fluorescence quantitative analysis, and the physicochemical properties, structure and function on its coding product were analysed preliminarily based on the method of bioinformatics. [**Results**] The completed CDS of Wuliangshan silky chicken *FSHR* gene is 2 082 bp in length, encoding a peptide composed of 693 amino acid residues. Bioinformatics analysis showed that the Wuliangshan silky chicken *FSHR* has not a signal peptide. This protein contains three conservative domains, seven transmembrane domains and six kinds of functional active sites. The secondary structure of *FSHR* in Wuliangshan silky chicken are mainly composed of random curl and α -helix, occupied 35.50% and 31.17% respectively. The amino acid sequence alignment showed that homology is more than 87.4% between Wuliangshan silky chicken and other poultry. Fluorescent quantification results showed that the gene expression in gonadal tissue highest, indicating that the gene relative to the production performance, reproductive performance.

[**Conclusion**] *FSHR* belongs to the G protein coupled receptor family, which is mediate follicular-stimulating effects and may play an important role in transport and binding, signal transduction, modification and processing.

Keywords: Wuliangshan silky chicken; *FSHR*; expression; bioinformatic analysis

YOU 等^[1]于 1996 年首次成功克隆出鸡的 *FSHR* cDNA。FSH (follicle stimulating hormone, 促卵泡素) 基因对雌性动物卵泡的生长发育、分化和成熟起重要作用, 但需通过 *FSHR* (follicle stimulating hormone receptor, 促卵泡素受体) 基因的介导来实现其生物学功能。FSH 是垂体前叶分泌的调控动物繁殖活动的糖蛋白质激素, 它能促进性腺的发育和成熟, 对动物卵巢的卵泡发育、成熟和排卵具有重要作用^[2-3]。雌性动物中, *FSHR* 位于卵泡颗粒细胞膜上, *FSHR* 与促卵泡素 FSH 结合, 通过 G 蛋白偶联机制激活酶, 使细胞内 CAMP 增加或 Ca^{2+} 内流增加, 从而对细胞代谢或功能活动产生影响。基因敲除实验发现: *FSHR* 基因可以促进动物的卵巢发育、卵泡发生、FSH 的分泌等^[4]。

FSHR 基因是影响繁殖性状和生长性状的重要基因, 在一些禽类动物上对 *FSHR* 基因的研究已有一些报道。该基因定位于鸡的 3 号染色体, 含有 10 个外显子和 9 个内含子, 全长 77 664 bp^[5]。杨孔等^[6]研究发现: 藏鸡和罗曼鸡的 *FSHR* 外显子 1、4 具有多态性, 这 2 个外显子核苷酸突变位点的等位基因频率和基因型频率在藏鸡和罗曼鸡之间呈极显著差异, 该基因的 SNP 与产蛋量具有显著相关性。李亨等^[7]研究发现: 文昌鸡 *FSHR* 基因外显子 1~9 和两侧内含子区域上存在 4 个 SNP 位点, 推测其可作为分子标记。

迄今, 对无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因的研究还

未见报道。本研究对无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因完整编码区序列进行了克隆, 对多个组织进行了 qPCR 表达分析, 在此基础上对其编码蛋白质理化特性、结构及功能进行了分析, 为解析无量山乌骨鸡繁殖性状的遗传基础提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验样品

本研究样品采自云南省昆明市云南农业大学鸡场, 采集成年健康无量山乌骨鸡的心、肝、脾、肺、肾、肌胃、脑、小肠、胸肌、腿肌、胸腺、法氏囊、卵巢、垂体等组织。样品低温带回实验室后, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2 总 RNA 提取及 cDNA 合成

使用 RNA 提取试剂盒提取无量山乌骨鸡各组织的总 RNA, 用紫外分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性, 选择质量较好的 RNA 样品参照反转录试剂盒说明书进行 cDNA 的合成。

1.3 引物设计与目的片段扩增

根据 NCBI 数据库中已发表的普通鸡 *FSHR* 基因序列 (登录号: NM_205079) 采用 Oligo 7 软件设计 2 对引物用于扩增无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因的完整编码区。设计特异性引物扩增目的片段:

F₁: 5'-CGCACTCCTTCCTTCTAGATG-3';

R₁: 5'-TGTAATACCGGCTTTTGGTC-3';

F₂: 5'-CAAACCTCACTGTACCTCGTT-3';

R₂: 5'-TTATCACAACCTGCCTCAGACAC-3'。

设计用于荧光定量的特异引物扩增 257 bp:

F₃: 5'-CCTTCCCAAACCTACATGAAATAAGA-3';

R₃: 5'-TATTTAGCCGTAGAATCACACTTTC-3'。

以 β -actin 基因为内参扩增 225 bp, 利用荧光定量法分析各组织的表达水平, 引物如下所示:

F: 5'-GTGTGATGGTTGGTATGGGC-3';

R: 5'-CTCTGTTGGCTTTGGGGTTC-3'。

1.4 RT-PCR 分离 *FSHR* 基因

PCR 反应总体积 50 μ L, 采用 TaKaRa Ex TaqE 体系, 琼脂糖凝胶电泳确定扩增的 *FSHR* 基因片段与引物设计时预期的片段大小吻合, 胶回收后送公司测序。

1.5 序列组装及数据分析

利用 DNASTar 软件包对所得序列进行核对并识别序列的开放阅读框, 进行编码区核酸序列组成分析, 推导其对应的氨基酸序列。使用 Mega 7.0 软件进行物种间氨基酸序列比较分析。采用 ProtParam tool、NCBI 数据库中 BLAST 程序、ProtComp9.0、SignalP4.1、TMHMM Server2.0、SOPMA 等软件分别预测 *FSHR* 基因编码氨基酸的分子量和等电点、FSHR 蛋白的保守结构域、亚细胞定位、信号肽、跨膜结构、二级结构。

2 结果与分析

2.1 *FSHR* 基因扩增结果

对 *FSHR* 基因编码区进行扩增, PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 结果见图 1。扩增片段长度与预期结果相符, F₁/R₁ 扩增片段长度为

1 342 bp, F₂/R₂ 扩增片段长度为 945 bp。

2.2 *FSHR* 基因分离鉴定

对测序所得序列进行开放阅读框查找, 然后使用 NCBI 数据库进行同源搜索, 确定其为无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因序列。经过拼接组装, 最终确定无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因 CDS 区, 长 2 082 bp, 编码 693 个氨基酸 (图 2)。

2.3 *FSHR* 蛋白质序列基本理化特性

对无量山乌骨鸡 *FSHR* 蛋白基本理化特性分析结果见表 1。

2.4 *FSHR* 亚细胞定位及跨膜结构

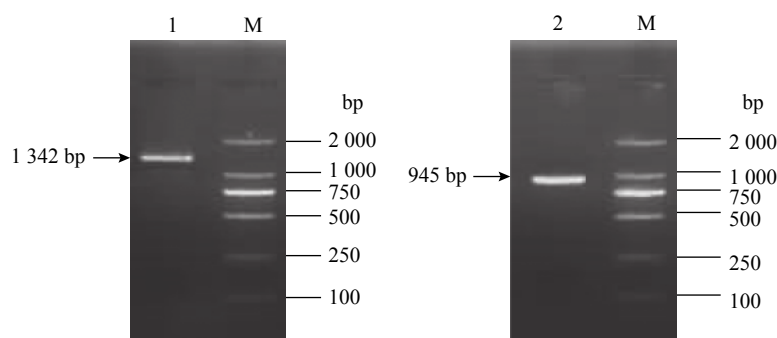
无量山乌骨鸡 *FSHR* 蛋白定位于内质网上, 概率为 77.8%。*FSHR* 含有 4 个胞外域、4 个胞内域和 7 个跨膜结构域, 是典型的 7 次跨膜蛋白。胞外域分别位于氨基酸序列的 1~366、424~442、509~531 和 598~606 等位点; 跨膜结构域分别位于氨基酸序列的 367~389、401~423、443~465、486~508、532~554、575~597 和 607~629 等位点; 胞内域分别位于氨基酸序列的 390~400、466~485、555~574 和 630~693 等位点 (图 3)。

2.5 *FSHR* 蛋白保守结构域

预测结果显示: *FSHR* 蛋白含有 LRR_5 超家族、GnHR 超家族和 7tm_GPCRs 超家族等 3 个保守结构域 (图 4)。LRR_5 位于第 61~216 位氨基酸处, GnHR 超家族位于第 282~349 位氨基酸处, 7tm_GPCRs 超家族位于第 363~637 位氨基酸处。

2.6 *FSHR* 二级结构和三级结构分析

由 *FSHR* 二级结构分析结果 (图 5) 可知: α -螺旋占 31.17% (含有 216 个氨基酸), 延伸链占 26.26% (含 182 个氨基酸), β 转角占 7.07% (含



注: M. DNA 相对分子质量标准 DL2000; 1. F₁/R₁ PCR 产物; 2. F₂/R₂ PCR 产物。

Note: M. Marker-DL2000; 1. F₁/R₁ PCR product; 2. F₂/R₂ PCR product.

图 1 无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因 RT-PCR 产物

Fig. 1 RT-PCR products of Wuliangshan silky chicken *FSHR* gene

49 个氨基酸), 无规则卷曲占 35.50% (含 246 个氨基酸)。当 α -螺旋 $<5\%$ 、延伸链 $>45\%$ 时为 all-beta 型; 当 α -螺旋 $>30\%$ 、延伸链 $>20\%$ 时为 al-

pha-beta 型; 当 α -螺旋 $>45\%$ 、延伸链 $<5\%$ 时为 all-alpha 型; 其他情况为 mixed 型^[8]。因此, 无量山乌骨鸡 FSHR 蛋白的构型为 alpha-beta 型。

[illegible]

注: ATG 为起始密码子, 下划线为保守结构域; 第 61~216 位氨基酸处为 LRR_5; 第 282~349 位氨基酸处为 GnHR 超家族; 第 363~637 位氨基酸处为 7tm GPCRs 超家族。

Note: ATG. start codon; underline. conserved domain; 61-216 AA consist of LRR_5; 282-349 AA consist of GnHR superfamily; 363-637 AA consist of 7tm GPCRs superfamily.

图2 无量山乌骨鸡 *FSHR* 基因 CDS 序列与编码的氨基酸序列

Fig. 2 Coding sequence and amino acids sequence of Wuliangshan silky chicken *FSHR* gene

表 1 无量山乌骨鸡 FSHR 蛋白的理化特性分析

Tab. 1 The physicochemical properties analysis of Wuliangshan silky chicken FSHR protein

特性 characters	预测结果 prediction results	特性 characters	预测结果 prediction results
等电点 isoelectric point (PI)	8.85	分子式 formula	C ₃₅₈₈ H ₅₆₃₂ N ₉₃₀ O ₉₇₉ S ₃₉
分子量/ku molecular weight	78.7	不稳定系数 instability index (II)	45.17
负电荷残基数 negatively charged residues (Asp + Glu)	54	平均疏水性 grand average of hydropathicity (GRAVY)	0.226
正电荷残基数 positively charged residues (Arg + Lys)	69	脂肪系数 aliphatic index (AI)	104.53

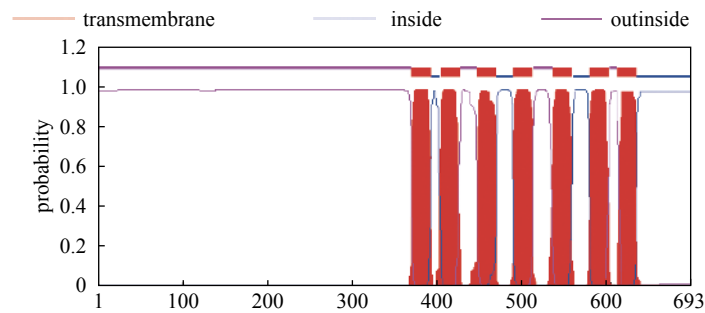


图 3 无量山乌骨鸡 FSHR 跨膜结构域

Fig. 3 Transmembrane domains of Wuliangshan silky chicken FSHR

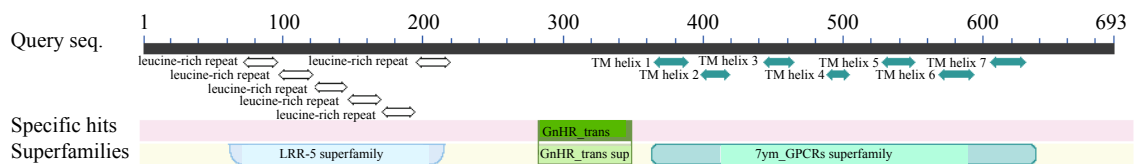


图 4 无量山乌骨鸡 FSHR 保守结构域

Fig. 4 Conserved domains of FSHR in Wuliangshan silky chicken

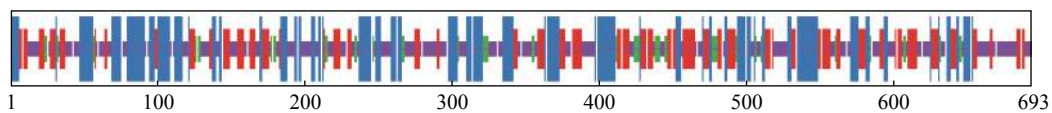


图 5 无量山乌骨鸡 FSHR 蛋白二级结构

Fig. 5 The secondary structure of Wuliangshan silky chicken FSHR

2.7 FSHR 蛋白功能位点分析

预测结果显示：FSHR 蛋白质含有 6 类功能活性位点，包括 N-糖基化位点、N-肉豆蔻酰化位

点、酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、蛋白激酶 C 磷酸化位点、酰胺化位点和酪氨酸激酶磷酸化位点 (表 2)。

表 2 无量山乌骨鸡 FSHR 蛋白功能活性位点分析

Tab. 2 Functional active sites of Wuliangshan silky chicken FSHR protein

功能位点 putative functional sites	位置及氨基酸组成 position and amino composition
N-糖基化位点 N-glycosylation site	47-50:NATE; 191-194:NGTC; 199-202:NLSD; 268-271:NFTY; 380-383:NTTV
N-肉豆蔻酰化位点 N-myristoylation site	64-69:GAfrGL; 439-444:GAGcNA; 441-446:GCNaAG; 681-686:GTiySL
酪蛋白激酶 II 磷酸化位点 casein kinase II phosphorylation site	78-81:SqnD; 193-196: TcdD; 263-266:SlIE; 313-316:SaaE; 564-567:SnsD
蛋白激酶 C 磷酸化位点 protein kinase C phosphorylation sites	121-123:SIR; 249-251:TyR; 279-281:TnR; 305-307:TgK; 347-349:SpK; 555-557:TvR; 596-598:SIR; 632-634:TfR
酰胺化位点 amidation site	305-308:tGKR
酪氨酸激酶磷酸化位点 tyrosine kinase phosphorylation site	677-684:Kns.DgtiY

2.8 FSHR 序列同源性比较

将 NCBI 数据库下载的原鸡 (NP_990410)、珍珠鸡 (XP_021246584)、鸭子 (XP_005012152)、鹅 (XP_013047925)、白鹭 (XP_009646499)、鹌鹑 (XP_015712376) 和大山雀 (XP_015478711) 的 FSHR 氨基酸序列与本研究的无量山乌骨鸡序列

比对发现 (表 3)：各物种间 FSHR 基因编码的氨基酸序列较保守，无量山乌骨鸡与原鸡的同源性较高，为 99.9%，与珍珠鸡、鸭子、鹅、白鹭、鹌鹑和大山雀的同源性分别为 93.4%、90.2%、90.2%、88.2%、95.4% 和 87.4%。基于 FSHR 氨基酸序列，采用 Mega 7.0。

表 3 无量山乌骨鸡与其他物种 *FSHR* 氨基酸序列一致性

物种 species	无量山乌骨鸡 Wuliangshan silky chicken	原鸡 gallus	珍珠鸡 guinea fowl	鸭子 duck	鹅 goose	白鹭 egret	鹌鹑 quail	大山雀 big tits
无量山乌骨鸡 Wuliangshan silky chicken	*	99.9	93.4	90.2	90.2	88.2	95.4	87.4
原鸡 gallus	0.1	*	93.2	90.0	90.0	88.0	95.2	87.3
珍珠鸡 guinea fowl	7.0	7.1	*	92.3	92.9	91.8	95.2	90.2
鸭子 duck	10.5	10.7	8.1	*	98.6	93.8	91.8	91.6
鹅 goose	10.5	10.7	7.4	1.5	*	93.9	92.4	92.5
白鹭 egret	12.9	13.1	8.7	6.5	6.3	*	90.6	93.2
鹌鹑 quail	4.8	4.9	5.0	8.7	8.1	10.0	*	89.3
大山雀 big tits	13.8	14.0	10.5	8.9	7.9	7.1	11.5	*

注：对角线以上数值表示一致性百分比，对角线以下数值表示代表分歧度。
Note: The values of the above diagonal line represent the identity percentage, below the diagonal represent divergence.

根据氨基酸序列构建系统发育树 (图 6)，结果显示：原鸡、珍珠鸡、鹌鹑和无量山乌骨鸡聚为一类的支持率为 68%；鸡形目物种聚为一类的支持率为 100%。

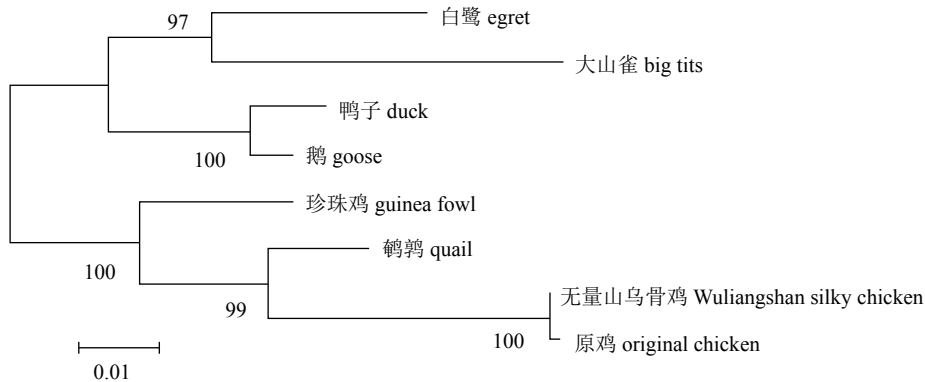


图 6 无量山乌骨鸡与其他物种 *FSHR* 氨基酸序列系统树

Fig. 6 Phylogenetic tree based on *FSHR* amino acids sequences of Wuliangshan silky chicken and other species

2.9 实时荧光定量表达分析

以 β -actin 为内参基因作校正，用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析计算，结果 (图 7) 表明：*FSHR* 基因 mRNA 在卵巢、垂体、小肠、脾、肝中高表达；在肾和脑中中度表达；在心、肺、肌胃、胸腺、法氏囊、胸肌中低表达。

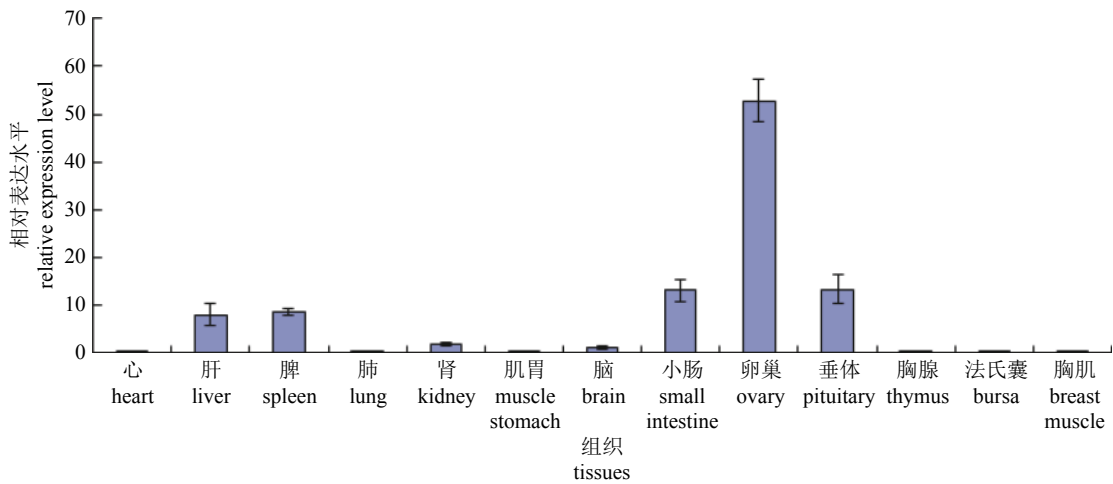


图 7 *FSHR* 基因荧光定量多组织表达谱

Fig. 7 Multi-tissues qPCR expression profile of *FSHR* gene

3 讨论

FSHR 参与卵泡的生长发育和分化成熟,与动物的繁殖性状存在一定的关联性。陈祥等^[9]通过对其基因多态性及其 mRNA 的表达量研究第 1 外显子和第 10 外显子,均发现存在 SNP 位点。牛云超等^[10]通过免疫组织化学法对处于卵泡期的成年母犬的卵巢、子宫、输卵管中 FSHR 进行免疫定位分析,研究 FSHR 在母犬生殖器官中的分布情况,发现不同的发情周期有不同的表达差异。FSHR 的复杂结构决定其功能的多样。

保守结构域含有 LRR_5 超家族、GnHR 超家族和 7tm_GPCRs 超家族,其中 LRR_5 超家族含有许多亮氨酸的重复序列,存在很多 BSPA-like (BSPA,金黄色葡萄球菌 A 蛋白是细胞壁抗原的主要成分)表面抗原^[11]。在真核生物中发现的 GnHR 超家族长约 70 个氨基酸,有 2 个完全保守的 C 残基端,在生物学功能上可能发挥着重要作用。这个家族包含促卵泡激素和促黄体生成激素(2 种主要的促性腺激素受体)的跨膜区域。这些受体参与生殖细胞发育过程和成熟的 G 蛋白与受体偶联的过程^[12]。7tm_GPCRs 超家族是七跨膜 G 蛋白偶联受体超家族,通过 G 蛋白将生理信号从细胞外传递到细胞内。该家族成员参与种细胞外刺激,包括肽、脂质、神经递质、氨基酸、激素等。所有的 G 蛋白偶联受体都具有共同的结构,包括由 3 个细胞外和 3 个细胞内相互连接的 7 个跨膜螺旋^[13]。

二级结构分析结果显示:FSHR 主要为无规则卷曲和 α 螺旋,分别占 35.50% 和 31.17%。蛋白质的空间结构很大程度上决定其功能。其中,无规则卷曲则构成酶活性部位和其他蛋白质的特异功能部位,对蛋白质的功能起着决定性作用, α 螺旋主要对蛋白质骨架具有稳定性^[14]。此外,FSHR 的 N 端有 17 个氨基酸组成的信号肽,而 ProtComp 9.0 软件预测该蛋白 77.8% 的部分定位于内质网上,表明 FSHR 可能在内质网合成或者在细胞质中合成运输到内质网上。内质网可以运输细胞中的物质,也参与蛋白质修饰和加工,尤其糖基化较多。对无量山乌骨鸡 FSHR 功能位点进行预测,发现 FSHR 蛋白质含有 6 类功能活性位点,其中胞外区 N 端存在 4 个保守的糖基化位点,分别是 (47-50)NATE、(191-194)NGTC、(199-

202)NLSLD 和 (268-271)NFTY。其中,磷酸化修饰对蛋白的结构和功能具有至关重要的作用,磷酸化与细胞的信号转导、细胞周期等息息相关^[15]。对无量山乌骨鸡 FSHR 功能位点预测发现:该蛋白含有 5 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点、8 个蛋白激酶 C 磷酸化位点、1 个酪氨酸激酶磷酸化位点。其中酪蛋白激酶 II 是酶类家族中的重要成员,催化蛋白磷酸化作用的过程,控制细胞生命活动^[16]。酪蛋白激酶 II 作为参与细胞信号转导的一种重要分子,通过对底物的磷酸化作用而影响机体的活动^[16]。FSHR 含有大量的磷酸化位点,可能与该基因在内质网上的原因有关。因此,FSHR 可能在参与转运和结合、信号转导、翻译后修饰等方面具有重要作用。

对各物种 FSHR 蛋白序列进行同源性比较,其同源性在 87.4% 以上,无量山乌骨鸡与原鸡的同源性较高,分别为 99.9%,表明 FSHR 高度保守。基于 FSHR 氨基酸序列构建的系统树结果表明亲缘关系较近的物种可能 FSHR 生物学功能较相似。

采用 β -actin 作为内参,对该基因进行实时荧光定量。在禽类中,通过对京海黄鸡 *FHSR* 基因在不同生长时期及组织中的表达情况进行研究,分别在 4、16、20 周龄进行定量分析,发现该基因在性腺中表达量最高^[17]。另外,垂体的表达会随着鸡的生长周龄有稳定上升趋势。而笔者在无量山乌骨鸡的组织表达谱也发现,该基因在性腺卵巢中表达量最高,与文献结果一致,表明该基因可能主要在性腺中发挥功能。

[参考文献]

- [1] YOU S, BRIDGHAM J T, FOSTER D N, et al. Characterization of the chicken follicle-stimulating hormone receptor (cFSH-R) complementary deoxyribonucleic acid, and expression of cFSH-R messenger ribonucleic acid in the ovary[J]. *Biology of Reproduction*, 1996, 55(5): 1055. DOI: [10.1095/biolreprod55.5.1055](https://doi.org/10.1095/biolreprod55.5.1055).
- [2] 牛志宏, 冯云. FSH 受体基因单核苷酸多态性与卵巢功能[J]. *中国妇幼保健研究*, 2008(3): 268. DOI: [10.3969/j.issn.1673-5293.2008.03.034](https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5293.2008.03.034).
- [3] 朱士恩. 家畜繁殖学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 14.
- [4] WEIL S, VENDOLA K, ZHOU J, et al. Androgen and follicle-stimulating hormone interactions in primate ovarian follicle development[J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1999, 84(8): 2951. DOI: [10.1093/ajph/84.8.2951](https://doi.org/10.1093/ajph/84.8.2951).

- 1210/jcem.84.8.5929.
- [5] SIMONI M, GROMOLL J, NIESCHLAG E. The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology[J]. *Endocrine Reviews*, 1997, 18(6): 739. DOI: [10.1210/edrv.18.6.0320](https://doi.org/10.1210/edrv.18.6.0320).
- [6] 杨孔, 杨艾琳, 吴梦玲. 藏鸡 *FSH β* 、*POU1F1* 和 *FSHR* 的基因多态性及其与产蛋性能的关系[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2014, 40(1): 1. DOI: [10.3969/j.issn.1003-4271.2014.01.01](https://doi.org/10.3969/j.issn.1003-4271.2014.01.01).
- [7] 李亨, 陈宽维, 李慧芳, 等. 文昌鸡促卵泡素受体 (*FSHR*) 基因外显子区域 SNPs 分析[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(7): 83.
- [8] 曾杰, 龚金秋, 王水莲. 小鼠 *GnIH* 基因克隆及生物信息学分析[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(4): 8. DOI: [10.13823/j.cnki.jtcvm.2017.04.002](https://doi.org/10.13823/j.cnki.jtcvm.2017.04.002).
- [9] 陈祥, 龙威海, 孙振梅, 等. 贵州地方山羊 *FSHR* 基因与繁殖性状的相关性研究[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(1): 94. DOI: [10.3969/j.issn.1674-7968.2017.01.011](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-7968.2017.01.011).
- [10] 牛云超, 刘丹阳, 张睿, 等. 促性腺激素受体在母犬生殖器官的表达定位研究[J]. 延边大学农学学报, 2017, 39(1): 71. DOI: [10.13478/j.cnki.jasyu.2017.01.012](https://doi.org/10.13478/j.cnki.jasyu.2017.01.012).
- [11] MARCHLER-BAUER A, BO Y, HAN L Y, et al. CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(Database issue): D200. DOI: [10.1093/nar/gkw1129](https://doi.org/10.1093/nar/gkw1129).
- [12] MARCHLER-BAUER A, DERBYSHIRE M K, GONZALES N R, et al. CDD: NCBI's conserved domain database[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(Database issue): D222. DOI: [10.1093/nar/gku1221](https://doi.org/10.1093/nar/gku1221).
- [13] MARCHLER-BAUER A, LU S N, ANDERSON J B, et al. CDD: a conserved domain database for the functional annotation of proteins[J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(Database issue): D225. DOI: [10.1093/nar/gkq1189](https://doi.org/10.1093/nar/gkq1189).
- [14] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 207.
- [15] GARAVELLI J S. The RESID database of protein modifications as a resource and annotation tool[J]. *Proteomics*, 2004, 4(6): 1527. DOI: [10.1002/pmic.200300777](https://doi.org/10.1002/pmic.200300777).
- [16] BEN-NISSAN G, YANG Y D, LEE J Y. Partitioning of casein kinase 1-like 6 to late endosome-like vesicles[J]. *Protoplasma*, 2010, 240(1/2/3/4): 45. DOI: [10.1007/s00709-009-0087-y](https://doi.org/10.1007/s00709-009-0087-y).
- [17] 王亚男. 京海黄鸡 *FSH β* 和 *FSHR* 基因的遗传效应及其表达规律研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2015.

责任编辑: 何馨成