

新奇的调控分子——microRNA

邹文辉 (西北民族大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730030)

摘要 microRNA(miRNA) 是一类内源性表达的在转录后基因调控中发挥重要作用的小分子非编码 RNA。在动植物细胞中, miRNA 通过翻译抑制和靶 mRNA 去稳定性来调控靶基因, 从而调控生长、发育、分化、死亡等生物过程。综述了 miRNA 的发现、形成、特点及调控机制。

关键词 microRNA; 形成; 调控机制

中图分类号 S188 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)34-14902-03

Novel Regulatory Molecule —— microRNA

ZOU Wen-hui (College of Life Science and Engineering, Northwest University for Nationalities, Lanzhou, Gansu 730030)

Abstract microRNAs(miRNAs) are one kind of small-molecule non-coding RNAs with endogenous expression that play important roles in the posttranscriptional gene regulation. In the cells of animals and plants, miRNAs regulate the biological processes such as the growth, development, differentiation and death by regulating their target genes by translational inhibition and mRNA destabilization. The discovery, biogenesis, characters and regulatory mechanism of miRNA were reviewed.

Key words microRNA; Biogenesis; Regulatory mechanism

microRNAs(miRNAs) 是由广泛存在于生物基因组, 由内含子和编码基因间隔区的 RNA 基因编码的、长约 22~24 N 的小调控分子, 其表达具有组织和时期特异性, 而且其中一些基因在进化上有很高的保守性。miRNAs 可广泛调节其他基因的表达, 从而在生物发育过程中发挥重要作用。自从最早的 2 个 miRNAs lin-4 和 let-7 被发现后^[1], 通过分子克隆和生物信息学方法, 许多 miRNAs 在植物、动物和病毒中相继被识别^[2-6]。目前, miRNA 数据库里已经收录了来自 58 个物种的 5 071 个 miRNA 位点, 约表达 5 922 个不同的成熟 miRNAs。有关 miRNA 的命名、序列、注释、靶位点预测及 miRNA 基因组学等数据可登陆相关网站查询 <http://microrna.sanger.ac.uk/software/Rfam/mirna>。

一般 miRNAs 可通过与靶 mRNAs 的 3' 非翻译区(3' UTRs) 不完全互补配对结合而下调或抑制靶基因表达^[1,7-9]。近来, 许多研究工作主要通过动物模型来揭示 miRNAs 如何产生, 如何沉默靶基因表达, miRNAs 的靶基因如何被识别以及通过基因表达模式、miRNAs 突变体表型和靶基因超表达等研究手段来说明 miRNAs 的生物学功能。这些研究表明, miRNAs 可能构成了一个新的基因表达调控体系。miRNA 的发现为基因表达调控研究打开了新的窗口, 这无疑为研究者们提供了一种全新的角度来认识基因及其表达调节的本质, 以期重新描绘基因表达调控网络图。

1 miRNA 的发现

miRNA 最早是 1993 年在线虫中被发现的。Lee 等利用遗传分析方法在秀丽新小杆线虫中发现了第一个能时序调控胚胎后期发育长 22 N 的小分子 RNA: lin-4^[1]。它通过与 Lin-14(一种线虫异时发育时钟途径蛋白(Heterochronic Developmental Timing Protein)^[9] 的 3' UTR 的部分互补结合来抑制其蛋白的翻译^[1]。不过, 这仅仅被看作是一个偶然事件, 因为尚未在其他生物中找到类似的 RNA, 直至 Reinhart 等^[7] 又在线虫中发现了第 2 个异时性小分子 RNA: let-7。在此之后, 不同的研究小组相继在线虫、果蝇、斑马鱼、拟南芥、

水稻和人类细胞等多种真核模式生物和细胞中找到了 1 000 多个相类似的小分子 RNA^[10]。let-7 不但能抑制相应基因的表达, 更重要的是 let-7 在不同物种间是高度保守的^[7]。于是, 国际统一将这类小 RNA 命名为 microRNA(miRNA), 它的研究也成为新的热点。

2 miRNA 的形成

miRNAs 一般是由广泛存在于生物基因组内含子和编码基因间隔区的 RNA 基因编码的。除位于 Alu 重复单元中的 miRNAs 基因可通过 RNA 聚合酶 III (Pol III) 转录外^[11], 大多数通过 RNA 聚合酶 II (Pol II) 转录形成一个含有茎环结构、几百至几万 N 的初始 miRNA (pri-miRNA)^[12-13]。像 mRNAs 一样, 经 Pol II 转录的 pri-miRNAs 带有 5' 帽子结构, 多聚腺苷化, 可以被剪接^[12,14]。pri-miRNA 在细胞核中被一种核心成分为 RNase III 酶 Droscha 和双链 RNA 结合结构域蛋白 DGCR8/Pasha、被称作微处理器(Microprocessor) 的多蛋白复合物加工处理^[15-19]。这种复合物从 pri-miRNA 的单/双链连接处度量一定距离裂解茎部^[20], 产生一个大约 70 N 的发卡前体 miRNA (pre-miRNA)。pre-miRNA 中通过 RNase III 裂解产生的 2N:3 突出可被核质/细胞质转运蛋白 Exportin-5 识别, 从而通过 Ran-GTP 依赖机制被转运至胞质^[21]。

然后, pre-miRNA 被另一种 RNase III 酶 Dicer 和其辅因子 TRBP 共同作用产生成熟的大约 22 N miRNA: miRNA*^[22]。随后, 在人类细胞中 TRBP 募集 Argonaute 蛋白(Ago2, 也可能是其他 Ago 蛋白) 与 Dicer 一起形成三聚复合物而启动 RNA 诱导的沉默复合物(RISC) 的装配^[23]。miRNA 链通过 5' 端互补以相对低的稳定性被整合进 RISC, 然而 miRNA* 链被特异降解^[24]。miRNA 一旦被整合进 RISC, 就会通过碱基配对引导复合物到达靶 mRNA 而发挥作用。

3 miRNA 的特点

miRNA 具有以下几个明显特征: 一般由内含子和编码基因间隔区内源性表达, 本身不具有开放阅读框(ORF), 不编码蛋白质。成熟的 miRNA 5' 端有单一磷酸基团, 3' 端为羟基。miRNA 基因不是随机排列的, 其中有一些是成簇的, 而且簇生排列的基因常协同表达^[4]。具有明显的细胞和组织特异性^[25]。大多数已发现的 miRNA 表达都具有时序

性^[3]。大多数 miRNAs 在胞质中发挥作用,但近来的一篇报道表明,3'端具有6'N 保守序列(AGUGUU)的成熟 miR-29b 可直接进入细胞核^[26]。当 miRNA 与靶 mRNA 的序列高度同源时,介导靶 mRNA 的降解。当与靶 mRNA 的序列部分同源时,介导靶蛋白翻译的抑制。与靶 mRNA 的序列互补性取决于“种子区域”(Seed Region),即 miRNA 5'端的第2位到第8位核苷酸序列^[27]。

4 miRNA 的调控作用及机制

4.1 miRNA 的整体调控方式 miRNA 一般可通过2种方式下调靶基因:一种是剪切和降解靶 mRNAs;一种是抑制靶 mRNAs 翻译。

不管是完美地还是接近完美地与 miRNA 互补,靶 mRNAs 都能被剪切和降解;此外,它们的转录也被抑制^[28]。但仅仅内源性 miRNAs 的靶 mRNAs 被剪切^[29],多数动物的 miRNAs 与靶 mRNAs 通过不完全互补引起翻译抑制,而不是剪切和降解。在这种抑制模式下,靶 mRNA 不被降解,但由于被去腺苷化和相应的去帽而变得不稳定^[30-31]。miRNAs 抑制转录的机制还不清楚,阻碍翻译这一步还存在争议。有研究表明 miRNAs 阻碍翻译起始,但也有的表明其阻碍翻译延伸^[32]。

4.2 miRNA 的整体调控特点 通过对 miRNAs 表达模式与它们的保守靶基因的关系的整体分析,得到了相似的结论^[33]。这些研究证明:平均一个 miRNA 具有成百个基因靶位点;很少有预测的靶 mRNA 拥有多个保守的单 miRNA 结合位点,这表明由一个 miRNA 结合多个靶位点而引起的大规模调控是例外的;大量 mRNAs 在选择压力下避免被共表达的 miRNAs 调控;参与细胞基本活动的基因已经被选择使一些位点丢失或缩短3'UTRs 来限制潜在的破坏性 miRNAs 调控的发生,然而,参与发育过程的基因显示有丰富的 miRNAs 靶位点。

4.3 靶基因的2种类型 一般根据 miRNA 的调控效应将靶基因分为开关型和调节型2种类型来描述 miRNAs 和靶基因之间的2类关系^[34]。对于开关型靶而言,miRNAs 可将其表达降低到一个无用的水平,从而将其有效地关闭。大部分像 miR-1 和 miR-124 那样在表达 miRNAs 的细胞中以低水平表达的靶基因都属于这一类型。

调节型靶的概念反映了 miRNAs 能将靶基因的表达调整到一个合适水平的作用。调节型靶能利用 miRNAs 通过改变 miRNAs 的表达水平而抚平本身的表达波动,以保证自身在一个合适的水平表达。

2种类型的靶基因的不同点关键在于,与 miRNAs 作用后的残余表达是无用的还是对一个特异的功能是必需的。

4.4 miRNA 的调控作用

4.4.1 作为发育的开关。miRNA 可作为发育的开关作用于有关开关型靶基因而使其关闭,从而发挥某种调控作用,例如,早期在线虫中通过突变表型遗传扫描的方法发现的 lin-4 和 let-7^[1,7]。lin-4 可关闭有关抑制基因使线虫完成从幼虫期第一阶段到第二阶段的转变;let-7 可关闭有关抑制基因使线虫完成从幼虫期到成年期的转变。

4.4.2 微调发育程序。miRNA 可作用于调节型靶基因而微

调发育程序。例如,在早期斑马鱼胚胎发生过程中,miR-430 通过调控母源 mRNA 的降解而使其完成从母源 mRNA 到合子 mRNA 转录的转变。miR-430 的缺失会造成母源和合子基因的重叠表达,从而干扰形态发生^[35]。

4.4.3 作为肿瘤抑制物。许多 miRNAs 在分化的细胞类型中被表达,miRNAs 的整体表达水平可反映组织的不同状态。一项研究报道,miRNAs 的整体表达在癌组织中低于正常组织^[36]。miRNA 谱的显著不同可能被指定于各种肿瘤类型,这表明 miRNA 谱具有肿瘤诊断和预测潜能^[36]。

miRNAs 在癌组织中的缺失也许表明它可作为肿瘤抑制物。例如,miR-15a 和 miR-16-1 基因在多数慢性白血病患者中缺失^[37]。这2种 miRNAs 可靶向作用于 B 细胞淋巴瘤 2 (*Bcl2*, 一种抗凋亡基因),表明这些 miRNAs 在 B 细胞中的缺失可导致凋亡的抑制,从而引起恶性肿瘤。然而,对于多数 miRNAs 来说,是否 miRNAs 在肿瘤形成中确实起积极作用还是未知的。

4.4.4 miRNAs 与病毒。miRNAs 已经在核 DNA 病毒(如疱疹病毒)中被发现,但截至目前还未在 RNA 病毒中发现^[38-39]。病毒可利用 miRNAs 控制它们的宿主细胞;相反地,宿主细胞也可利用 miRNAs 控制病毒一些基本的功能。例如,SV40 编码的 miRNAs 可帮助感染的细胞逃避免疫系统。miR-S1 在以后的病毒复制循环中表达,以降解早期病毒 mRNAs 编码的 T 抗原,从而限制被感染细胞暴露给细胞毒性 T 淋巴细胞^[40];细胞可利用 miRNAs 阻止病毒复制,如 miR-32 限制反转录病毒 PFC-1 在培养细胞中复制^[41]。

5 结语

综上所述,miRNA 作为一种重要的基因表达调控分子,广泛参与生物体的生长、发育、衰老、死亡等多种生物过程的调控。但是迄今为止,真正确认功能的 miRNA 不超过10个,所以,对 miRNA 及其靶基因和功能的研究仍需要继续深入。

参考文献

- [1] BARTHEL D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [2] BARTHEL D P, CHEN C Z. MicroRNAs: regulators of gene expression; the potentially widespread influence of metazoan microRNAs [J]. *Nat Rev Genet*, 2004, 5: 396-400.
- [3] BEHMANSMANTI, REHWINKEL J, DOERKS T, et al. mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes [J]. *Genes Dev*, 2006, 20: 1885-98.
- [4] BEREZIKOV E, CUPPEN E, FLASTERK R H. Approaches to microRNA discovery [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(Suppl): 2-7.
- [5] BORCHERT G, MLANER W, DAVIDSON B L. RNA polymerase III transcribes human microRNAs [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13: 1097-1101.
- [6] BRACHT J, HUNTER S, EACHUS R, et al. Trans-splicing and polyadenylation of let-7 microRNA primary transcripts [J]. *RNA*, 2004, 10: 1586-94.
- [7] CAI X, HAGEDORN C H, CULLEN B R. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs [J]. *RNA*, 2004, 10: 1957-1966.
- [8] CALING A, DUMITRUC D, SHIMZUM, et al. Frequent deletions and down-regulation of microRNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15524-15529.
- [9] CULLEN B R. Viruses and microRNAs [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(S1): 25-30.
- [10] DENI A M, TOPS B B, FLASTERK R H, et al. Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex [J]. *Nature*, 2004, 432: 231-235.
- [11] FARH K K, GRIMSON A, JANC, et al. The widespread impact of mammalian microRNAs on mRNA repression and evolution [J]. *Science*, 2005, 310: 1817-1821.
- [12] GRALDEZ A J, CINALI R M, GLASNER M E, et al. MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish [J]. *Science*, 2005, 308: 833-838.
- [13] GREGORY RI, CHENDRIMADA T P, COOCHN, et al. Human RISC couples

- microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing[J]. *Cell*, 2005, 123:631 - 640.
- [14] GREGORY R I, YAN K P, AMUTHAN G, et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs[J]. *Nature*, 2004, 432:235 - 240.
- [15] HAN J, LEE Y, YEOMK H, et al. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing[J]. *Genes Dev*, 2004, 18:3016 - 3027.
- [16] HAN J, LEE Y, YEOMK H, et al. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex[J]. *Cell*, 2006, 125:887 - 901.
- [17] HWANG H W. A hexanucleotide element directs microRNA nuclear import[J]. *Science*, 2007, 315:97 - 100.
- [18] HUIVAGNER G, ZAMORE P D. A microRNA in a multiple-turnover RNA enzyme complex[J]. *Science*, 2002, 297:2056 - 2060.
- [19] JACKSON R J, STANDAR N. How do microRNAs regulate gene expression? [J]. *Si-STKE*, 2007, 2(367):34 - 41.
- [20] KETTING R F, HSCHER S E, BERNSTEIN E, et al. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in *C. elegans*[J]. *Genes Dev*, 2001, 15:2654 - 2659.
- [21] LAGOS QUINTANA M, RAUHUT R, LENDECKEL W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs[J]. *Science*, 2001, 294:853 - 858.
- [22] LANDTHALER M, YALCIN A, TUSCHL T. The human DiGeorge syndrome critical region gene 8 and its *D. melanogaster* homolog are required for miRNA biogenesis[J]. *Genes Dev*, 2004, 18:2162 - 2167.
- [23] LAUN C, HILM P, WEINSTEIN G, et al. An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Science*, 2001, 294:858 - 862.
- [24] LECHELIER C H, DUNOYER P, ARAR K, et al. A cellular microRNA mediates antiviral defense in human cells[J]. *Science*, 2005, 308:557 - 560.
- [25] LEE R C, AMBROS V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Science*, 2001, 294:862 - 864.
- [26] LEE R C, FENBAUM R L, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5):843 - 854.
- [27] LEE Y, AHNC, HAN J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing[J]. *Nature*, 2003, 425:415 - 419.
- [28] LEE Y, KIM M, HAN J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II[J]. *EMBO J*, 2004, 23:4051 - 4060.
- [29] LEWIS B P, SHIH H, JONES RHOADES M W, et al. Prediction of mammalian microRNA targets[J]. *Cell*, 2003, 115:787 - 798.
- [30] LU J, GETZ G, MISKA E A, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers[J]. *Nature*, 2005, 435:834 - 838.
- [31] MARONEY P A, YU Y, FISHER J, et al. Evidence that microRNAs are associated with translating messenger RNAs in human cells[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, 13:1102 - 1107.
- [32] PFEFFER S, ZAVOLAN M, GRASSER F A, et al. Identification of virus-encoded microRNAs[J]. *Science*, 2004, 304:734 - 736.
- [33] REINHART B J, SLACK F, BASSON M, et al. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 2000, 403(6772):901 - 906.
- [34] REINHART B J, WEINSTEIN E G, RHOADES M W, et al. MicroRNAs in plants[J]. *Genes Dev*, 2002, 16(13):1616 - 1626.
- [35] RUBY J G, JAN C, PLAYER C, et al. Large-scale sequencing reveals 21U-RNAs and additional microRNAs and endogenous siRNAs in *C. elegans* [J]. *Cell*, 2006, 127:1193 - 1207.
- [36] SCHWARZ D S, HUIVAGNER G, DUT, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex[J]. *Cell*, 2003, 115:199 - 208.
- [37] SLACK F J, BASSON M, HUIVAGNER G, et al. The *lin-41* RBCC gene acts in the *C. elegans* heterochronic pathway between the *let-7* regulatory RNA and the LIN-29 transcription factor[J]. *Mol Cell*, 2000, 5:659 - 669.
- [38] SULLIVAN C S, GRUNDHOFF A T, TEVETHIAS, et al. SV40-encoded microRNAs regulate viral gene expression and reduce susceptibility to cytotoxic T cells[J]. *Nature*, 2005, 435:682 - 686.
- [39] YEKIA S, SHIH H, BARTHEL D P. MicroRNA-directed cleavage of *HoxB8* mRNA[J]. *Science*, 2004, 304:594 - 596.
- [40] WGHIMAN B, HAI, RUMKUN G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans* [J]. *Cell*, 1993, 75:855 - 862.
- [41] YEKIA S, SHIH H, BARTHEL D P. MicroRNA-directed cleavage of *HoxB8* mRNA[J]. *Science*, 2004, 304:594 - 596.
- [42] YI R, QIN Y, MACARAI G, et al. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs [J]. *Genes Dev*, 2003, 17:3011 - 3016.

(上接第14901页)

腹脂的连锁关系,结果显示该位点多态性与日采食量、背膘厚和腹脂无明显相关^[14]。Park等在野猪×大白品系中发现该突变与生长速度和脂肪性状无明显相关^[15]。而Kim等在伯克群×约克夏(n=525)中发现Asp289Asn突变与脂肪沉积性状显著相关。不同的研究结果表明MC4R的遗传背景可能对Asp298Asn的突变效应起着重要作用。

(3) 荷包猪是我国宝贵的猪种资源之一,现仅存少数量的保种群体。在荷包猪的特殊遗传背景下,MC4R基因位点的突变与荷包猪的生产性能有何关系,是否存在其他与经济性状相关的多态位点,有待进一步研究。荷包猪前身是辽西野猪,有着独特的抗逆性,耐粗饲力,肉质极佳,对其进行分子水平研究,可以为荷包猪的保种和进一步开发利用提供重要科学依据。

参考文献

- [1] GANIZI M W A, KONDA Y, et al. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268:174 - 179.
- [2] COLE R D. The central melanocortin system and energy homeostasis[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 1999, 10:211 - 216.
- [3] HUSZAR D, LYNCH C A, FAIRCHILD HUNTRESS V, et al. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice[J]. *Cell*, 1997, 88:131 - 141.
- [4] VASSE C, CLEMENT K, GUY-GRAND B, et al. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity[J]. *Nat Genet*, 1998, 20:113 - 114.
- [5] KIM K S, LARSEN H J. Mapping and investigation of novel candidate for fatness, growth, and feed intake in the pig[J]. *Breeding and Physiology*, 1999, 137:20 - 21.
- [6] KIM K S, LARSEN N, SHORT T, et al. A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits[J]. *Anim Genome*, 2000, 11(2):131 - 135.
- [7] CHEN M, WANG A G, FUJ L, et al. Different allele frequencies of MC4R gene variants in Chinese pig breeds[J]. *Arch Tierz Dummerstorf*, 2004, 47(5):463 - 468.
- [8] 刘桂兰, 蒋思文, 熊远著, 等. 猪资源家系MC4R基因扫描及其与脂肪性状的相关分析[J]. *遗传学报*, 2002, 29(6):497 - 501.
- [9] 杨晓慧, 刘源, 唐辉, 等. 猪MC4R基因Asp298Asn位点的多态性及其与商品猪背膘厚的关系[J]. *农业生物技术学报*, 2008, 16(3):407 - 411.
- [10] BRUN C S, JORGENSEN C B, NELSEN V H, et al. Evaluation of porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire[J]. *Anim Genet*, 2006, 37:359 - 362.
- [11] KIM K S, REECY J M, HSU W H, et al. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin-4 receptor mutation in domestic pigs[J]. *Domestic Animal Endocrinology*, 2004, 26:75 - 86.
- [12] HOUSTON R D, CAMERON N D, RANCE K A. A melanocortin four receptor (MC4R) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations [J]. *Anim Genet*, 2004, 35(5):386 - 390.
- [13] OVILLO C, FERNANDEZ A, RODRIGUEZ M C, et al. Association of MC4R gene variants with growth, fatness, carcass composition and meat and fat quality traits in heavy pigs[J]. *Meat Science*, 2006, 73:42 - 47.
- [14] STACHOWAK M, SZYDLOWSKI M, OBARZANEK FOJT M, et al. An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful [J]. *Anim Genet*, 2006, 37(1):55 - 57.
- [15] PARK H B, CARLBORG O, MARKLUND S, et al. Melanocortin 4 receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White × Wild Boar intercross[J]. *Anim Genet*, 2002, 33:155 - 157.
- [16] 强巴央宗, 张浩, 凌遥, 等. 藏猪黑素皮质激素受体4基因TaqI多态性分析[J]. *中国畜牧杂志*, 2007, 43(23):1 - 3.
- [17] LI C Q, JIN H, GUO X F, et al. RFLP analysis of melanocortin 4 receptor gene in ram of cashmere goat[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2008, 9(3):49 - 52, 55.