

Doğu Anadolu Kırmızısı Melez Sığırlarda Prolaktin Geni Polimorfizmi¹

Zeynep SÖNMEZ

Memiş ÖZDEMİR

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 25240 Erzurum, Türkiye

Geliş Tarihi : 04.03.2015

Kabul Tarihi :24.06.2016

ÖZET : Bu çalışmada, yerli Doğu Anadolu Kırmızısı melezi sığırlarında Prolaktin genine ait polimorfik bölgeler PCR-RFLP yöntemiyle incelenmiş ve bölgelere ait gen ve genotip frekansları belirlenmiştir. Analizde 5'UTR bölgesi için *HaeIII*, 4.ekzon bölgesi için *RsaI* restriksiyon enzimleri kullanılmıştır. PCR-RFLP analizi sonucunda PRL geni 5'UTR bölgesinde popülasyon monomorfik bulunmuştur. PRL geni 4.ekzon bölgesinde AA, AB ve BB genotip frekansları melez popülasyonda sırasıyla 0.49, 0.44. ve 0.07 olarak tespit edilmiştir. Prolaktin geni 4. ekzon *RsaI* polimorfizm bölgesinde popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde ($p>0.05$) olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Prolaktin, Polimorfizm, DAK melezi, PCR-RFLP.

Polymorphism of Prolactin Gene in the East Anatolian Red Crossbreds

ABSTRACT : In this study, in the native East Anatolian Red Crossbreds, different polymorphic site of Prolactin gene was examined by PCR-RFLP method and the gene and genotype frequencies were determined. In the analysis of 5'UTR, we used *HaeIII* while *RsaI* restriction enzyme for exon 4. PCR-RFLP analysis was resulted with monomorphic genotype for 5'UTR in the population. AA, AB and BB genotype frequencies in exon 4 were 0.49, 0.44 and 0.07 for crossbreds EAR. In *RsaI* polymorphic site of the prolactin exon 4 the population was in the H-W equilibrium ($p>0.05$).

Keywords: Prolactin, Polymorphism, EAR Crossbred, PCR-RFLP.

GİRİŞ

Moleküler genetik teknolojilerindeki gelişmelerle birlikte çiftlik hayvanlarında verimi etkileyen genetik yapıyı tanımlamada özellikle genetik kaynak olarak kullanılabilen popülasyonların belirlenebilmesi ve tanımlanmasında kullanılan, koruma programlarında kolaylık sağlayan moleküler düzeyde markır olarak adlandırdığımız genetik belirteçlerin tanımlanmasıyla Markır Destekli Seleksiyon (MAS = Marker Assisted Selection) programlarında kullanılmak üzere farklı moleküler belirteçler ve her bir belirtecin moleküler düzeyde tanımlanmasını sağlayan çeşitli moleküler genetik yöntemler geliştirilmiştir (Öner vd. 2011).

Süt verimi üzerinde etkili olduğu bilinen Prolaktin (PRL) hormonu beynin ön pitüitari bezi (hipofizin ön lobu) tarafından salgılanan çok fonksiyonlu bir polipeptittir. PRL geni 23. kromozom üzerinde (Hallerman vd., 1987) 10 kb uzunluğunda 5 ekzon ve 4 intron bölgesi içerir (Camper vd., 1984). 30'u sinyal amino asiti 199 aktif amino asit olmak üzere toplam 229 amino asit sentezler (Cao vd., 2002; Bachelot and Binart 2008).

Prolaktin, hipofiz bezinin ön lobu tarafından salgılanan iç salgı hormonu olmasının yanı sıra bağışıklık hücreleri tarafından da üretilir (Orbach ve Shoenfeld, 2007). Prolaktin için hedef organ meme bezidir, burada gelişimi ve diferansiyonu uyarır (Schradin ve Pillay, 2004). Kandaki yüksek

düzeyleri, overlerde steroid sentezini ve hipofizer gonadotropinlerin sentez ve sekresyonlarını inhibe eder. Süt salgısını uyarmasının yanı sıra büyüme, üreme, ozmoregülasyon, immünoloji, cinsel bezlerin gonadotropin salgılamasını, böbreklerden su, sodyum ve potasyum atılması, laktasyonun başlaması ve devamlılığı aynı zamanda, meme bezi büyümesi ve laktogenezisten sorumludur (Horseman vd., 1997; Semprini vd., 2012). Erkeklerde fizyolojik dozlarda normal testosteron üretiminin devamlılığına katkıda bulunur, sperm motilitesini ve fertilitateyi etkileme gibi 300'den fazla etkiye sahiptir (Horseman vd., 1997).

PRL geni üzerinde yapılan polimorfizm çalışmaları *RsaI* kesim bölgesi üzerinde yoğunlaşırken, incelenen varyantların frekans dağılımı çalışmalar arasında farklılık göstermektedir (Miceikiene vd., 2006; Akyüz vd. 2012). Çeşitli sığır ırkları ve Bufalolar üzerinde PRL gen polimorfizminin incelendiği çalışmaların bazıları Çizelge 1' de verilmiştir.

Yaptığımız bu çalışmada Türkiye'de Doğu Anadolu Bölgesinde yaygın şekilde yetiştiriciliği yapılan Doğu Anadolu Kırmızısı (DAK) Melezi sığırlarında PRL gen lokusunun PCR-RFLP yöntemi kullanılarak Prolaktin genine ait polimorfik gen bölgeleri incelenmiş ve gen ve genotip frekansları belirlenmiştir.

¹ Bu makale, Zeynep SÖNMEZ tarafından hazırlanan "Doğu Anadolu Kırmızısı ve Melezi Sığırlarda Prolaktin Geni Polimorfizmi" başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli Irklara ait Prl geni polimorfizmi

PRL 5'UTR Bölgesi					
Kaynak	İrk	A	B	N	Sonuç
Ladani <i>vd.</i> (2003)	Jaffarabad Mehsani Surti Bufaloları	-	1.0	94	-
Madnalwar <i>vd.</i> (2010)	Pandharpuri Bufaloları	-	1.0	50	-
Sharifi <i>vd.</i> (2010)	Najdi sığırı	0.57	0.43	84	-
Tabar <i>vd.</i> (2010)	İran Bufaloları	1.0	-	85	-
PRL/RsaI Polimorfizmi 4. ekzon Bölgesi					
Kaynak	İrk	A	B	N	Sonuç
Dybus (2002)	Siyah-Alaca	0.86	0.14	1086	AA genotipi lehine Süt verimiyle ilişki.
Dybus <i>vd.</i> (2005)	Siyah-Alaca Jersey	0.85 0.31	0.15 0.69	427	Yağ verimi ile ilişki
Miceikiene <i>vd.</i> (2006)	Litvanya süt ırkı sığırları	0.87	0.13	396	Sütte yağ oranı ile ilişki.
Alipanah <i>vd.</i> (2008)	Rusya Siyahı Rusya Kırmızısı	0.71 0.70	0.29 0.30	170	Süt verimi ve süt yağı ile ilişki.
Kepenek (2007)	GAK DAK Yerli Kara Bozırk Holstein	0.76 0.66 0.56 0.70 0.86	0.24 0.34 0.44 0.30 0.14	191	Süt verimi ile ilişki.
Wojdak <i>vd.</i> (2008)	Holstein-Friesian	0.58	0.42	720	Süt verimi ve süt yağı ile ilişki.
Öztabak <i>vd.</i> (2008)	DAK GAK	0.56 0.74	0.44 0.26		Süt verimi ile ilişki.
Kumari <i>vd.</i> (2008)	Ekzotik ırklar (Holstein Friesian Jersey), Zebu ırkları	0.77 0.67	0.23 0.33	501	-
Ghasemi <i>vd.</i> (2009)	Montebeliard inekleri	0.63	0.37	120	Süt verimi ile ilişki.
Kaplan ve Boztepe (2010)	İsviçre Esmeri Anadolu Mandası	0.82 1.0	0.18 -	75 -	-
Sodhi <i>vd.</i> (2011)	Hindistan yerli ırkları	0.52	0.48	936	-
Vikas <i>vd.</i> (2012)	Frieswal süt inekleri	0.63	0.370	54	Laktasyon süresi ile ilişki
Verma <i>vd.</i> (2012)	Hindistan Murrah bufaloları	0.93	0.07	150	-
Alfonso <i>vd.</i> (2012)	Amerikan Swiss ırkı süt sığırı	0.88	0.12	417	Süt verimi ile ilişki.
Akyüz <i>vd.</i> , (2012)	Boz ırk DAK Yerli Kara GAK Esmer İsviçre Holstein	0.76 0.70 0.58 0.76 0.73 0.86	0.24 0.30 0.42 0.24 0.27 0.14	259	-

MATERYAL VE METOD

Erzurum ve Artvin illerine ait bazı çevre köylerde yetiştirilen birbiriyle ilişkisiz 57 baş DAK Melezi sığır materyal olarak kullanılmıştır. Genomik DNA, ticari DNA izolasyon kiti (Purgene DNA kiti (Gentra Systems, Minnesota, USA)) ile elde edilmiştir. Elde edilen DNA'ların çoğaltılması amacıyla PCR uygulamalarına geçmeden önce, DNA'nın kalitatif ve kantitatif kontrolleri %2'lik agaroz jel elektroforezi ile yapılmıştır.

Analizde 5'UTR bölgesi PRL/HaeIII Forward: 5'-CCC TAG GGG AGA CCT TTG ATC ACC-3. Revers:5'-GGA AGT GGA GAG CTG CCA AGC A-3', 4.ekzon bölgesi PRL/RsaI Forward:5'-TTC ATG AAG CTG CTC ACC TG-3',Revers:5'-TTG ATT CTT GGG TTG CTG CG-3' primerleri, Primer3 programı (Rozen and Skaletsky 2000) ile tarafımızdan dizayn edilmiş (NCBI GenBank dizilimi giriş no: AB098480 ve AF426315) ve kullanılmıştır. PCR amflifikasyonu için toplam hacim 20 µl'ye tamamlanacak şekilde yaklaşık 50-100 ng genomik

DNA, Buffer (pH:8.5) 5.0µl (10X), F Primer; 10 pmol/µl, R Primer; 10 pmol/µl, MgCl₂ 1.2 µl, Taq; 0.5-1.0 ünite, dNTP; 2.5µl alınarak ddH₂O ile birlikte toplam hacim 20 µl'e tamamlanmıştır. İncelenen PRL geni bölgelerine ilişkin PCR döngü koşulları denatürasyonun ilk adımında 94°C'de 5 dak. 1 döngü, 2.denatürasyon 30 döngü olmak üzere 5'UTR ve 4. ekzon bölgelerinde sırası ile 94°C'de 45 sn, 30 sn, annealing sıcaklıkları 58°C'de 45 sn, 61°C'de 48 sn; ilk uzama sıcaklıkları 72°C'de 45 sn, ve 40 sn; son uzama sıcaklıkları 72°C'de 5 dak ve 1 döngü olarak programlanmıştır.

Amplifikasyonu gerçekleşen her bir örnekten yaklaşık 8-10 µl'lik kısım 0,2 ml'lik steril ependorf tüplere konularak, üzerine 2-5 Ü ilgili bölge için restriksiyon enzimi, 2-5 µl RE tamponu, 5 µl ddH₂O ilave edilmiş ve sonra üzeri 10-15 µl mineral oil ile kapatılmıştır. Daha sonra etüve yerleştirilerek

37°C'de 12 saat süreyle inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

İncelenen DAK Melez sığırların PRL lokusu allel gen ve genotip frekansları ile genotip frekanslarına ait H-W genetik denge testi için GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, 2012) programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

PRL geninin 5'UTR bölgesine ait 432 bp'lik PCR ürünün HaeIII enzimi ile kesilmesi sonucu tüm populasyon monomorfik bulunmuştur. 4. ekzon bölgesi 210 bp'lik PCR ürününün RsaI enzimi ile kesime uğratılması sonucu 210,120, 90 bp (AA, AB, BB) olmak üzere üç bant elde edilmiştir. Restriksiyon enzimlerinin tanıma ve kesim bölgeleri ile bant büyüklükleri Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Prolaktin geni polimorfik bölgelerinde kullanılan restriksiyon enzimleri ve bant büyüklükleri

Bölge	RE	PCR ürünü (bç)	Tanıma (5'→3')	Bölgesi	Beklenen Genotip ve Bant Büyüklüğü (bç)
5'UTR	<i>HaeIII</i>	432	GG^CC		AA=432 BB=243,189 AB=432, 243, 189
Ekzon 4	<i>RsaI</i>	210	GT^AC		AA=210 BB=120, 90 AB=210, 120, 90

PCR-RFLP analizi sonucunda PRL geni 5'UTR bölgesinde 57 örneğin tamamı monomorfik bulunmuştur. PRL geni RsaI kesim bölgesinde AA, AB ve BB genotip frekansları populasyonda sırasıyla 0.49, 0.44. ve 0.07 olarak tespit edilmiştir. İncelenen melez populasyonda 4.ekzon bölgesi A alleli gen frekansı 0.71 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3. DAK Melezi Sığırlarda PRL/*RsaI* polimorfizmine ait genotip ve allel frekansları.

PRL/ <i>RsaI</i> polimorfizmi				
Genotip			Allel Frekansı	
AA	AB	BB	A	B
0.49	0.44	0.07	0.71	0.29

PRL geni RsaI polimorfizmini belirlemek için farklı ırklarla daha önce yapılan çalışmalarda Alipanah vd. (2008) Rusya Siyah Alaca ve Kırmızı süt sığır ırklarında, Wojdak vd. (2008) Holstein-friesian süt ineklerinde, Sharifi vd. (2010) Najdi sığırlarında, Rorie vd. (2009) Holstein Friesian, Jersey ve Zebu sığırlarında, Miceikienė vd. (2006) Lithuanian sığır ırkında, Vikas vd. (2012) Frieswal

süt ineklerinde, Verma vd. (2012) Hindistan Murrah bufalolarında, Sodhi vd. (2011) Hindistan yerli inek ırklarında (Bos indicus), Alfonso vd. (2012) American Swiss ırkında, Boleckova vd. (2012) Çek Fleckvieh sığırlarında, Kaplan ve Boztepe (2010), Anadolu Mandası ve İsviçre Esmeri ırklarında, Ghasemi vd. (2009) Montebeliard ineklerinde, Dybus vd. (2005), Siyah-Beyaz Alaca ve Jersey ırklarında, Dybus (2002), Holstein süt ineklerinde yapılan çalışma dahil olmak üzere PRL polimorfizmini belirlemek için yapılmış olan çalışmaların tümünde A allel frekansı yüksek, B allel frekansı düşük oranda bulunmuştur ve bulgularımız ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

5'UTR bölgesinde bulunan 432 bç'lik bölge, populasyon genelinde monomorfik ve BB genotipi şeklinde görülmüştür. PRL polimorfizmini belirleme çalışmalarında Madnalwar vd. (2010) Pandharpuri Bufalolarında polimorfizme rastlamamış, Tabar vd. (2010), İran Bufaloları üzerinde yaptıkları çalışmada bütün örnekleri monomorfik AA genotipinde bulmuşlardır. Ladani vd. (2003), Mehsani ve Surti Bufalolarının monomorfik yapıda olduğunu bildirirken, Jaffarabadi bufalusunun kesim bölgesine sahip olduğunu ve diğer Bufalo ırklarından ayrıldığını bildirmişlerdir.

Saf yetiştirilen DAK ırkı PRL/RsaI polimorfizmi bölgesinde PRL geni polimorfizmini belirlemek için daha önce yapılan çalışmalarda (Kepenek 2007; Öztabak vd. 2008; Akyüz vd. 2011)

A allel frekansı yüksek, B allel frekansı düşük olarak bildirilmiş ve incelenen Melez popülasyonun benzer sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4. PRL bölgelerine ait Genotip Frekansları ve Genetik Denge Testi

Bölge	N	Gözlenen			Beklenen			H-W (X^2)
		AA	AB	BB	AA	AB	BB	
Ekzon 4	45	22	20	3	23	18	4	0.30

Yapılan Hardy-Weinberg genetik denge testine göre, DAK Melez popülasyonunun 4.ekzon bölgesi itibariyle genetik olarak dengeye ulaştığı görülmektedir ($p>0.05$).

SONUÇ

Çalışmada elde edilen sonuçlar, bölgede mevcut DAK ırkı kan almış popülasyonların Prolaktin polimorfizminin boyutlarını ortaya koyması yönünden yeterli sayılabilir. Ancak, sonraki araştırmalarda, daha geniş sayıda örnekleme yaparak araştırmanın tekrarlanmasına ve Prolaktin geni polimorfik yapıları ile hayvanların çeşitli verim özellikleriyle ilişkilendirmeler yaparak çeşitli verim yönlerinde ıslah amacıyla kullanılabilir çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Fonu (Proje no: 2011/335) tarafından desteklenerek yürütülmüştür. Atatürk Üniversitesi BAP kuruluna teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

- Akyüz, B., Ağaoglu, K.Ö., Ertuğrul, O., 2012. Genetic polymorphism of kappa-casein, growth hormone and prolactin genes in Turkish native cattle breeds. *International Journal of Dairy Technology*, 65 (1): 38-44.
- Alfonso, E., Rojas, R., Herrera, J. G., Ortega, M. E., Lemus, C., Ruiz, J., Pinto, R. Gomez, H., 2012. Polymorphism of the prolactin gene (PRL) and its relationship with milk production in American Swiss cattle. *African Journal of Biotechnology*, 11 (29) : 7338-7343.
- Alipanah, M., Kalashnikova, L. A., Rodionov, G. V., 2008. Kappa-casein and PRL-RsaI genotypic frequencies in two Russian cattle breeds. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6 (6) :813-815.
- Bachelot, A., Binart, N., 2008. Reproductive role of prolactin. *Society for Reproduction and Fertility*, Doi: 10.1530/REP-06-0299
- Boleckova, J., Matejickova, J., Stipkova, M., Kyselova, J., Barton, L., 2012. The association of five polymorphisms with milk production traits in Czech Fleckvieh cattle. *Institute of Animal Science*, 57 (2): 45-53

- Camper, S. A., Luck, D. N., Yao, Y. W., Ychik, R.P., Goodwin, R. G., Lyons, R. H., Rottman, F. M., 1984. Characterization of the bovine PRL-Rsa I gene. *DNA. Liebertpublishers*, 3 (3): 237-249.
- Cao, X., Wang, Q., Yan, J. B., Yang, F. K., Huang, S. Z., Zeng, Y. T., 2002. Molecular cloning and analysis of bovine prolactin full-long genomic as well as cDNA sequences. *Yi. Chuan Xue. Bao*.29(9):768-773.
- Dybus, A., 2002. Associations of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. *Animal Science*, 20 (4) : 203-212
- Dybus, A., Grzesiak, W., Kamieniecki, H., Szatkowski, I., Sobek, Z., Blaszczyk, P., Czerniawska, P., E., Zych, S., Muszynska, M., 2005. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle. *Archives of Animal Breed*, 48 (2): 149-156
- Ghasemi, N., Zadehrahmani, M., Rahimi, G., Hafezian, S.H., 2009. Associations between prolactin gene polymorphism and milk production in montebeliard cows. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 1 (3) : 048-051,
- Hallerman, E. M., Nave, A., Kashi, Y., 1987. Restriction fragment length polymorphisms in dairy and beef cattle at the growth hormone and PRL-Rsa I loci. *Animal Genetics*, 18: 213-222.
- Horseman, N. D., Zhao, W., Rodriguez, E. M., Tanaka, M., Nakashima, K., Engle, S. J., Smith, F., Markoff, E., Dorshkind, K., 1997. Defective mammapoiesis, but normal hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene. *The Embo Journal*, Doi:10.1093/emboj/16.23.6926
- Kaplan, S., Boztepe, S., 2010. The determination of prolactin gene polymorphism using PCR-RFLP method within indigenous Anatolian Water Buffalo and Brown Swiss, 2nd International Symposium on Sustainable Development, 8-9, 2010, Sarajevo, 168-173.
- Kepenek, E. Ş., 2007. Polymorphism of Prolactin (Prl), Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT-1) and Bovine Solute Carrier Family 35 Member 3 (Slc35a3) genes in native cattle breeds and its implication for Turkish cattle breeding. A master Thesis, Biological Science Department, Middle East Technical University, Ankara
- Kumari, A. R., Singh, K. M., Soni, K. J., Patel, R. K., Chauhan, J. B., Sambasiva, R. K., 2008. Genotyping of the polymorphism within exon 3 of prolactin gene in various dairy breeds by PCR RFLP. *Arch. Tierz., Dummerstorf*, 51(3):298-299

- Ladani, D. D., Pipalia, D. L., Brahmkshtri, B. P., Rank, D. N., Joshi, C. G., Vataliya, P. H. and Solanki, J. V., 2003. PCR-RFLP polymorphism at prolactin locus in buffaloes. *Buffalo Journal*, 2: 237-242.
- Madnalwar, V. S., Sawane, M. P., Pawar, V. D., Patil, P. A., Fernandis, A. P., Bannalikar, A. S., 2010. Genotyping The Prolactin Gene In Pandharpuri Buffaloes by PCR-RFLP. Department of Animal Genetics and Breeding, Parel Mumbai, India. 29:2.
- Miceikiene, I., Peciulaitiene, N., Baltreinaite, I., Skinkyte, R., Indriulyte, R., 2006. Association of cattle genetic markers with performance traits. *Biologija*, 1:24-29.
- Orbach, H., Shoenfeld, Y., 2007. Hyperprolactinemia and autoimmune diseases. *Autoimmun Reviews*. 537-542
- Öner, Y., Pullu, M., Akın O., Elmacı C., 2011. Bursa Bölgesinde Yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca Irkı Sığırlarda Beta Laktoglobulin (β -lg) ve Büyüme Hormonu (bGH) Gen Polimorfizmlerinin HaeIII ve MspI Restriksiyon Enzimleri Kullanılarak İncelenmesi. *Kafkas Univ Vet. Fak. Derg.* 17 (3): 371-376
- Öztabak, K., Ün, C., Tesfaye, D., Akis, I., Mengi, A., 2008. Genetic polymorphisms of osteopontin (OPN), prolactin (PRL) and pituitary-specific transcript factor-1 (PIT-1) in South Anatolian and East Anatolian Red cattle. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 58: 109112 ISSN 0906-4702 Taylor ve Francis
- Peakall, R., Smouse, P. E., 2012. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539.
- Rozen, S., Skaletsky H. J., 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*, pp 365–386. Krawetz S, Misener S, eds. Totowa, NJ, USA: Humana Press, Source code available at <http://fokker.wi.mit.edu/primer3/>. Accessed 27/04/2005.
- Rorie, R. W. Howland, E. M., Lester, T. D. E., 2009. Evaluation of a Polymorphism in the Prolactin Gene as a Potential Genetic Marker for Mastitis Susceptibility and Milk Production. Arkansas, Department of Animal Science <http://arkansasagnews.uark.edu/1356.htm>
- Schradin, C., Pillay, N., 2004. The striped mouse (*Rhabdomys pumilio*) from the succulent karoo, South Africa: a territorial group-living solitary forager with communal breeding and helpers at the nest. *Journal of Comparative Psychology*, 118, 37–47
- Semprini, S., McNamara, A. V., Awais, R., Featherstone, K., Harper, C. V., McNeilly, J. R., Patist, A., Rossi, A. G., Dransfield, I., McNeilly, A. S., Davis, J. R. E., White, M. R. H., Mullins, J. J., 2012. Peritonitis activates transcription of the human prolactin locus in myeloid cells in a humanized transgenic rat model. *Endocrinology*, Doi:10.1210/en.2011-1926.
- Sharifi, S., Roshanfekr, H., Khatami, S. R., Mirzadeh, K. H., 2010. Prolactin Genotyping of Najdi Cattle Breed Using PCR-RFLP, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (2), 281-283
- Sodhi, M., Mukesh, M., Mishra, B. P., Parvesh, K., Joshi, B. K., 2011. Analysis of genetic variation at the prolactin-RsaI (PRL-RsaI) locus in Indian native cattle breeds (*Bos indicus*). *Biochemical Genetics*, 49(1-2):39-45.
- Tabar, Y. S., Fayazi, J., Roshanfekr, H., Mirzadeh, K., Sadr, A. S., 2010. Investigation of prolactin polymorphism in buffalo population of Khuzestan Iran by PCR-RFLP. *Journal of Animal and Veterinary*, 9(2): 284-286
- Verma, A., Gupta, I. D., Gandhi, R. S., 2012. Genetic polymorphism in exon 3 of prolactin gene in Indian Murrah Buffaloes. *Wayamba Journal of Animal Science*, ISSN: 2012-578X; 2012
- Vikas, M., Parmar, S. N. S., Thakur, M. S., Gurudutt, S., 2012. Association of prolactin gene polymorphism with milk production traits in Frieswal cattle. *Journal of Animal Research*, 2(2): 173/177
- Wojdak, M. K., Kmic, M., Strzalak, J., 2008. Prolactin gene polymorphism and somatic cell count in dairy cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(1): 35-40.