

绵羊、山羊 *KAPs* 基因的研究进展

李丽娟¹, 申小云^{1,2*}

(1. 毕节学院 草业生态研究所, 贵州 毕节 551700; 2. 毕节地区畜牧兽医局, 贵州 毕节 551700)

摘要: 综述了 *KAPs* 基因的结构和特点, 以及绵羊和山羊 *KAPs* 基因的研究进展。

关键词: *KAPs* 基因; 绵羊; 山羊; 高硫 *KAPs*; 超高硫 *KAPs*; 高甘氨酸/酪氨酸 *KAPs*

中图分类号: S826 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2010)06-0170-03

角蛋白相关蛋白基因(keratin associated proteins, KAP)是编码毛发纤维组成蛋白的一种结构基因, 由多基因家族编码^[1]。早在 1983 年 Powell 等就研究得出, *KAPs* 基因的长度都比较小, 大约在 0.6~1.5 kb, 一般包含一个单独的外显子, 并且都没有内含子, 这些外显子被一些介入序列所隔开^[2]。根据氨基酸的组成, *KAPs* 被分为 3 类: 高硫 *KAPs* (high sulfur *KAPs*)、超高硫 *KAPs* (ultra high sulfur *KAPs*) 和高甘氨酸/酪氨酸 (HGT) *KAPs* (high-glycine-tyrosine *KAPs*)^[3,4]。

Dunn 等在 1998 年报道, 高硫 *KAPs* 是由 *KAP 1.n*、*KAP 2.n*、*KAP 3.n* 3 个多基因家族编码的, 超高硫 *KAPs* 由 *KAP 4.n* 和 *KAP 5.n* 2 个多基因家族编码, 高甘氨酸/酪氨酸 (HGT) *KAPs* 是 *KAP 6.n*、*KAP 7* 和 *KAP 8* 多基因家族所编码^[5]。随着对 *KAPs* 基因研究的深入, 大量新的 *KAPs* 基因被发现。已发现的 23 个 *KAPs* 基因家族中(*KAP 1.n*—*KAP 23.n*), *KAP 1*—3、10—16 和 23 编码高硫 *KAPs*, *KAP 4*、5、9 和 17 编码超高硫 *KAPs*, *KAP 6*、7、8、18 和 22 编码高甘氨酸/酪氨酸 (HGT) *KAPs*。

从 20 世纪 80 年代至今, 关于 *KAPs* 的研究主要集中在人、鼠和羊上。但绵羊、山羊育种新技术不断发展, 分子育种逐渐应用于绵羊、山羊的育种中。进而 *KAPs* 基因在绵羊、山羊上的研究也日渐增多。为了对 *KAPs* 基因有更进一步的认识, 以下对 *KAPs* 基因功能和特点以及在绵羊、山羊中的研究进行综述。

1 *KAPs* 基因的结构和特点

KAPs 基因属于结构基因。毛纤维的 90% 由角蛋白辅助蛋白(keratin associated protein, KAP)和角蛋白中间丝(keratin intermediate filament, KIF)构成。角蛋白中间纤维丝形成 8~10 nm 的纤维丝, 而角蛋白辅助蛋白则在其外形成一种基质, 使中间纤维交联成束、成网, 并把中间纤维交联到质膜或其他骨架成分上。

在羊毛中, 大约有 50~100 个羊毛角蛋白^[6], *KAPs* 基因家族在染色体上是成簇存在的, 高甘氨酸/酪氨酸 *KAP 6*、*KAP 7* 和 *KAP 8* 连锁在一起, 是首先表达的蛋白^[7]。*KAPs* 基因的共同特点: 具有中间纤维特异性; 表达有细胞专一性; 不同的 *KAPs* 可存在于同一细胞中与不同的中间纤维组织状态相联系; 在细胞中某些 *KAPs* 的表达与细胞的功能和发育状态有关^[8]。

2 绵羊、山羊高硫 *KAPs* 的研究

McLaren 等通过连锁分析, 将 *KAP 1.1*、*KAP 1.2*、*KAP 1.3*、*KAP 3.2* 定位到绵羊的 21 号染色体上^[1]。之后, 众多学者对 *KAP 1*、*KAP 3* 在绵羊、山羊群体开展了大量的研究, 涉及的品种有新疆优质细毛羊、陕北细毛羊、美利奴羊、高原型、欧拉型和乔科型藏系绵羊、辽宁绒山羊和内蒙古绒山羊。

研究结果显示, 新疆优质细毛羊 *KAP 1.1* 基因与羊毛细度有显著的相关性^[9,10]; 高原型、欧拉型和乔科型 3 个类型藏系绵羊 *KAP 3.2* 基因可作为毛长性状和产毛量性状上的标记选择^[11]; 美利奴羊

收稿日期: 2009-12-14

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划(NSF9020); 贵州省优秀科技教育人才省长专项资金项目(黔省专合字(2009)129)

作者简介: 李丽娟(1983-), 女, 甘肃会宁人, 助教, 硕士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: llbjc@yahoo.cn

* 通讯作者: 申小云(1971-), 男, 湖南邵阳人, 教授, 博士, 主要从事草地生态学研究。E-mail: shenxy03@lzu.cn

KAP1.1 存在 30bp 缺失的长度片段多态性, *KAP1.3* 存在 9 个等位基因, 有一处突变引起核苷酸的改变。 *KAP1.1*、*KAP1.3* 在美利奴羊群体中的等位基因数均超出以前的报道^[12], 可能也是美利奴羊具有优质毛用性能的原因。

在辽宁绒山羊群体中, *KAP1.1* 可作为产绒量性状和体质量性状标记辅助选择的遗传标记, *KAP1.3* 可作为绒山羊产绒量性状标记辅助选择的遗传标记^[13]; 内蒙古绒山羊群体中, *KAP1.1* 可作为产绒量性状标记辅助选择的遗传标记, *KAP1.3* 可作为体质量性状标记辅助选择的遗传标记^[14]。也有报道显示, *KAP1.3* 在内蒙古绒山羊中各基因型与绒山羊经济性性状间没有显著相关^[15], 这样的分歧可能是由于试验误差造成, 具体原因还有待于进一步科学验证。

李长青等^[16] 对绒山羊 *KAP13-1* 基因在毛囊中的表达进行了研究, 得出绒山羊 *KAP13-1* 的序列与人、鼠的 *KAP13* 家族 cDNA 同源性较高, 但氨基酸序列同源性较低, 而且丝氨酸含量高, 半胱氨酸及甘氨酸/酪氨酸的含量远低于其他品种。绒山羊兴盛期毛囊 *KAP13-1* 的 mRNA 原位杂交也显示, *KAP13-1* 只在毛母质上部 and 皮质层起始部分表达, 且表达强烈。

马超对内蒙古绒山羊 *KAP16* 进行了研究报道, 得到 *KAP16.1* 和 *KAP16.2* 的 cDNA 全长序列, 大小分别为 393bp 和 532bp, 并提交 GenBank 获得注册号 A Y502950 和 A Y502951^[17]。

关于 *KAP2*、*KAP10-12*、*KAP14-15* 在绵羊、山羊上的研究目前尚未见到报道。

3 绵羊、山羊超高硫 *KAPs* 的研究

目前, 人类超高硫 *KAP4* 已确定在染色体 17q 上, *KAP5* 定位于 11q15 和 11q13, *KAP9* 和 *KAP17* 被定位于染色体 17q 12-21^[18], 但在绵羊、山羊上还未定位于染色体, 仅见对其序列分析和多态性检测。

王帅等对内蒙古绒山羊 *KAP4* 构建 cDNA 文库, 在不同物种间进行 *KAP4* 核苷酸和氨基酸序列的比较, 得出山羊 *KAP4* 的氨基酸序列与其他哺乳动物的氨基酸序列有很多一致或保守的区域。同时对绒山羊 *KAP4* 蛋白的二级结构预测, 发现绒山羊 *KAP4* 的二级结构中无规则线性长链结构最多, β -折叠结构较少, 几乎没有发现 α -螺旋^[19]。

Yu 等对 *KAP9.2* 在内蒙古绒山羊和陕北绒山羊群体中进行了多态性研究, 结果表明, *KAP*

9.2 P1 位点在这 2 个群体中存在 2 个等位基因, *KAP9.2* P2 位点出现一段 30bp 的缺失, 推测可能存在大小片段多态性, 并且可能是造成十肽结构数目重复的原因^[20]。

关于绵羊、山羊 *KAP5* 基因的研究目前尚未见到报道。

4 绵羊、山羊高甘氨酸/酪氨酸(HGT)*KAPs* 的研究

高甘氨酸/酪氨酸 *KAP6.1*, *KAP7* 和 *KAP8* 已定位到绵羊的 1 号染色体上^[1]。在羊毛中, *KAP6* 和 *KAP8* 在皮质层垂直分布^[21]。目前绵羊、山羊上对高甘氨酸/酪氨酸 *KAPs* 的研究主要集中在 *KAPs* 多态性检测和作为毛、绒用候选基因的研究上。

研究得出, *KAP6.1* 可作为优质细毛羊羊毛细度的显著性标记^[10, 22]。 *KAP6.1* 可作为内蒙古绒山羊和辽宁绒山羊产绒量性状的显著性标记^[13, 14]。张俊霞等通过扩增 5 种山羊的 *KAP6-1.2* 基因的编码区, 克隆测序并进行表达分析, 得出 *KAP6-1.2* 的核苷酸序列和氨基酸序列在不同地区、不同品种山羊中高度保守, 在胚胎和成年山羊皮肤的初级和次级毛囊的皮质层均有强烈的表达^[23]。

KAP6.2 基因在辽宁绒山羊、黎城大青羊和崂高代杂种山羊 3 个品种中均存在多态性, 共检测到 18 个 SNP, 造成了氨基酸序列的变化^[24]。 *KAP6.2* 基因在陕北绒山羊中存在特有的一段 24bp 的缺失, 推测可能此缺失突变是陕北绒山羊产绒量高的原因^[25]。

对于 *KAP7* 基因, 报道显示, 在辽宁绒山羊、黎城大青羊和崂高代杂种山羊 3 个品种中均不存在多态性^[24]。但高原型、欧拉型和乔科型 3 个类型藏系绵羊的 *KAP7* 基因在 5' 调控区报道存在一个 T→C 的突变 (102bp)^[17], 与经济性状的关联目前未见分析报道。

对于 *KAP8.1* 基因, Zhao 等报道, 在内蒙古绒山羊和陕北绒山羊群体中存在多态性, 发现了 2 个突变位点 c.63 T>G 和 c.66 C>G, 造成 2 个氨基酸的改变, 但为同义突变^[26]。王志有也报道, 藏系绵羊 *KAP8* 外显子上存在一个 T→C 的突变 (1122bp), 也属于同义突变^[11]。

5 小结

近年来, 关于 *KAPs* 基因的研究在鼠、牛、猩猩、狒狒上均有报道, 但主要集中在绵羊、山羊和人类上。随着分子生物学的发展, 分子标记技术应用

于动物育种中,以 *KAPs* 为候选基因,用于绵羊、山羊分子标记辅助育种日渐成熟。对 *KAPs* 的大量研究总结,可加深对 *KAPs* 基因的认识,有望给绵羊、山羊的分子育种提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] McLaren R J, Rogers G R, Davies K P, *et al.* Linkage mapping of wool keratin and keratin associated protein genes in sheep [J]. *Mammalian Genome*, 1997, 8: 938-940.
- [2] Powell B C, Sleigh M J, Ward K A, *et al.* Mammalian keratin gene families: organization for genes coding for the B2 high sulphur proteins sheep wool [J]. *Nucleic Acids Res*, 1983, 11: 5327-5346.
- [3] Marshall R C, Orwin D F C, Gillespie J M. Structure and biochemistry of mammalian hard keratin [J]. *Electron Microsc Rev*, 1991, 4: 47-83.
- [4] Plowman J E. Proteomic database of wool components [J]. *J Chromatogr B*, 2003; 787: 63-76.
- [5] Dunn S M, Keough R A, Rogers G E, *et al.* Regulation of a hair follicle keratin intermediate filament gene promoter [J]. *Journal of Cell Science*, 1998, 111: 3487-3496.
- [6] 钟白玉,程波,麦跃,等.正常人头皮毛囊角蛋白的免疫组化研究[J].第三军医大学学报,2000,22(11):1087-1090
- [7] Powell B C, Rogers G E. Characterization of a hair (wool) keratin intermediate filament gene domain [J]. *Investigate Dermatol*, 1994, 102: 171-177
- [8] 王春生,安铁洙,白秀娟,等.绵羊毛发角蛋白结合蛋白启动子的克隆与活性分析[J].中国兽医学报,2008,28(2):137-139
- [9] 刘桂芬.新疆优质细毛羊遗传多样性及羊毛细度候选基因的分析[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2005.
- [10] 姚毅,雷承志,尹君亮,等.新疆细毛羊和陕北细毛羊毛细度候选基因的 PCR-SSCP 分析[J].西北农林科技大学学报,2006,34(12):6-10.
- [11] 王志有.藏系绵羊 *KAP* 基因与部分经济性状的遗传相关性研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [12] Itenge-Mwezee T O, Forresta R H J, McKenzie G W, *et al.* Polymorphism of the *KAP1.1*, *KAP1.3* and *K33* genes in Merino sheep [J]. *Molecular and Cellular Probes*, 2007, 21: 338-342
- [13] 张亚妮,张恩平,吴迪,等.*KAP* 基因的多态性与辽宁绒山羊经济性状的关系研究[J].中国农业科学,2007,40(9):2062-2067
- [14] 张亚妮,张恩平,吴迪,等.内蒙古绒山羊 *KAP* 基因与经济性状关系的研究[J].畜牧兽医学报,2007,38(5):447-451
- [15] 孟伟星,李玉荣,刘斌,等.内蒙古白绒山羊经济性状与候选基因分析[J].畜牧与饲料科学,2008(4):35-37
- [16] 李长青,李玉荣,尹俊,等.绒山羊 *KAP13-1* 基因在毛囊中的表达[J].中国草食动物,2006(zl):111-114
- [17] 马超.内蒙古绒山羊 *HOXC13* 和 *KAP16* 基因的研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2008.
- [18] Yutaka Shimomura, Masaaki Ito. Human hair keratin-associated proteins [J]. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 2005, 10(3): 230-233.
- [19] 王帅,尹俊,吴小乐,等.内蒙古绒山羊 *KAP4* 序列及结构的特征分析[J].中国草食动物,2006(z1):130-132
- [20] Yu H, Wang X, Chen H, *et al.* The polymorphism of a novel 30bp-deletion mutation at *KAP9.2* locus in the cashmere goat [J]. *Small Ruminant Research*, 2008, 80: 111-115.
- [21] Rogers M A, Langbein L, Winter H, *et al.* Characterization of a first domain of human high glycine-tyrosine and high sulfur keratin-associated protein (KAP) genes on chromosome 21q22.1 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 48993-49002.
- [22] 刘桂芬,田可川,张恩平,等.优质细毛羊毛细度的候选基因分析[J].遗传,2007,29(1):70-74
- [23] 张俊霞,王利,尹俊,等.山羊 *KAP6-1.2* 基因的克隆表达及分析[J].生物技术,2007,17(3):20-23
- [24] 赵俊星,任有蛇,岳文斌.3个山羊品种 *KAP6.2* 和 *KAP7* 基因的 PCR-SSCP 分析[J].中国畜牧兽医,2007,34(12):42-45.
- [25] Zhao M, Wang X, Chen H, *et al.* The PCR-SSCP and DNA sequencing methods detecting a large deletion mutation at *KAP6.2* locus in the cashmere goat [J]. *Small Ruminant Research*, 2008, 75: 243-246
- [26] Zhao M, Chen H, Wang X, *et al.* aPCR-SSCP and DNA sequencing detecting two silent SNPs at *KAP8.1* gene in the cashmere goat [J]. *Mol Bio Rep*, 2009, 36: 1387-1391.
- [27] Rogers M A, Langbein L, Winter H, *et al.* Characterization of a cluster of human high/ultrahigh sulfur keratin-associated protein genes embedded in the type I keratin gene domain on chromosome 17q12-21 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 19440-19451.
- [28] 赵苗.绒山羊6个候选基因遗传变异及其与经济性状关系研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008
- [29] Rogers M A, Langbein L, Winter H, *et al.* Hair keratin associated proteins: characterization of a second high sulfur *KAP* gene domain on human chromosome 21 [J]. *J Invest Dermatol*, 2004, 122: 147-158.