

网络出版时间:2018-09-06 17:30

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2019.03.002

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20180906.1723.004.html>

# 绵羊 *STAT5a* 基因 intron10 和 exon12 遗传特征分析

郝志云,王继卿,赵孟丽,刘 秀,李少斌,胡 江,罗玉柱

(甘肃农业大学 动物科学技术学院,甘肃省草食动物生物技术重点实验室,

甘肃省牛羊基因改良工程实验室,甘肃 兰州 730070)

**[摘 要]** **【目的】**研究绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子和第 12 外显子的遗传多态性和群体遗传特征。**【方法】**以 2 个多羔绵羊品种湖羊(140 只)和多浪羊(144 只)及单羔羊藏绵羊(217 只)为研究对象,应用 PCR-SSCP 方法分析其 *STAT5a* 基因第 10 内含子和第 12 外显子的遗传多态性和群体遗传特征。**【结果】**绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子发现 13 210 A>G 突变,检测到 3 种基因型(AA、AG 和 GG)和 2 个等位基因(A 和 G);第 12 外显子上发现 14 827 A>G 突变,该突变属于同义突变,检测到 3 种基因型(MM、MN 和 NN)和 2 个等位基因(M 和 N)。在绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子和第 12 外显子中,杂合子 AG 和 MN 分别为优势基因型,基因型频率在多羔绵羊和单羔绵羊品种间差异极显著( $P<0.01$ )。3 个绵羊品种的多态信息含量均处于中度多态,藏绵羊的卡方值处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,而湖羊和多浪羊偏离了 Hardy-Weinberg 平衡状态。**【结论】**绵羊 *STAT5a* 基因具有多态性,且基因型频率在不同产羔数品种间差异极显著( $P<0.01$ )。

**[关键词]** 绵羊;*STAT5a* 基因;遗传多态性;PCR-SSCP

**[中图分类号]** S826

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2019)03-0007-07

## Genetic characteristics of intron 10 and exon 12 of *STAT5a* gene in sheep

HAO Zhiyun, WANG Jiqing, ZHAO Mengli, LIU Xiu,

LI Shaobin, HU Jiang, LUO Yuzhu

(Gansu Key Laboratory of Herbivorous Animal Biotechnology, Gansu Engineering Lab of Genetic Improvement in Ruminants, College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

**Abstract:** **【Objective】**This study investigated the genetic polymorphism and population genetic characteristics of intron 10 and exon 12 of *STAT5a* in sheep. **【Method】**A total of 140 Hu sheep and 144 Duo-lang sheep of two polygamous sheep breeds as well as 217 Tibetan sheep of single lambs were selected and the PCR-SSCP was used to analyze the genetic polymorphism and population genetic characteristics of intron 10 and 12 exon of the *STAT5a* gene. **【Results】**The 13 210 A>G mutation was found in the intron 10 of *STAT5a* gene including three genotypes (AA, AG and GG) and two alleles (A and G). The 14 827 A>G synonymous mutation including three genotypes (MM, MN and NN) and two alleles (M and N) were detected in the exon 12. Heterozygous AG and MN were dominant genotypes in intron 10 and exon 12. The frequencies of genotypes were significantly different among multiple lambs and single lambs ( $P<0.01$ ).

**[收稿日期]** 2018-02-20

**[基金项目]** 甘肃省基础研究创新群体项目(17JR5RA137);甘肃农业大学“伏羲青年英才”培育计划项目(Gaufx-02Y02);甘肃省高校基本科研业务项目;甘肃农业大学自列课题(GSAU-ZL-2015-033)

**[作者简介]** 郝志云(1991—),男,甘肃临夏人,在读硕士,主要从事草食动物遗传育种研究。E-mail: haozy2018@163.com

**[通信作者]** 罗玉柱(1962—),男,甘肃景泰人,教授,博士生导师,主要从事现代生物技术应用研究。E-mail: luoyz@gsau.edu.cn

The polymorphic information of the three sheep breeds was all moderately polymorphic. The Chi-square value of Tibetan sheep was in Hardy-Weinberg equilibrium, while that of Hu sheep and Duolang sheep deviated from Hardy-Weinberg equilibrium. 【Conclusion】 *STAT5a* was polymorphic and the genotype frequencies of lambs were significantly different among different litter sizes ( $P < 0.01$ ).

**Key words:** sheep; *STAT5a* gene; genetic polymorphism; PCR-SSCP

泌乳性状是家畜的一项重要数量性状,绵羊品种、胎次、产羔数、羊群结构及体质量等均对泌乳量有一定的影响。信号传导与转录激活因子 5a(Signal transducer and activator of transcription 5, *STAT5a*)在山羊中首次发现,被确定为“乳腺因子”<sup>[1-2]</sup>。研究发现,敲除 *STAT5a* 基因的小鼠(*Mus musculus*),在孕期因上皮细胞减少和分化障碍而不能形成具有正常功能的乳腺组织<sup>[3]</sup>。在奶山羊中, *STAT5a* 在催乳素-乳蛋白信号途径中起重要的作用,去除 *STAT5a* 的结合位点,可导致  $\beta$ -乳球蛋白和乳清蛋白的产量分别降低 80%和 90%<sup>[4]</sup>。另外, *STAT5a* 基因对乳腺发育<sup>[5]</sup>、免疫<sup>[6]</sup>、脂肪沉积和脂肪新陈代谢<sup>[7]</sup>等都有重要的作用,而且 *STAT5a* 基因也被视为催乳素(Prolactin, PRL)和生长激素(Growth hormone, GH)重要的下游基因<sup>[8]</sup>。

迄今为止, *STAT5a* 基因在奶牛和奶山羊中已被广泛研究,结果表明其核苷酸序列变异与泌乳性状密切相关。例如: Brym 等<sup>[9]</sup>报道 *STAT5a* 基因第 9 内含子的 9 501 A>G 突变会显著影响 138 头泽西牛的产奶量( $P < 0.05$ ), GG 基因型个体第一胎次的产奶量显著高于 AA 和 AG 基因型个体。何峰等<sup>[10]</sup>在荷斯坦奶牛的 *STAT5a* 基因中发现了 2 个 SNP 位点,其中 SNP1(9 501 A>G 突变)与 Brym 等<sup>[9]</sup>的研究结果一致,对乳蛋白率有显著影响( $P < 0.05$ );而 SNP2(12 440 T>C 和 12 550 位的 CCT 插入/缺失)对产奶量有极显著影响( $P < 0.01$ ),对乳脂量、乳蛋白量有显著影响( $P < 0.05$ )。鲍斌等<sup>[11]</sup>研究在中国荷斯坦奶牛中也发现, *STAT5a* 基因的多态性与 305 d 产奶量和乳蛋白率显著相关( $P < 0.05$ )。季敏等<sup>[12]</sup>研究发现, *STAT5a* 基因的核苷酸变异对水牛的产奶量和乳脂率有显著影响( $P < 0.05$ )。而在奶山羊上, *STAT5a* 基因第 9 内含子的 S163/S206 位点及第 7 外显子 C+69T 位点对山羊的体质量、体长和胸围有显著影响( $P < 0.05$ )<sup>[13-14]</sup>,并且 *STAT5a* 基因在泌乳盛期的山羊乳腺组织中高度表达<sup>[15]</sup>。而在绵羊上,在 *STAT5a* 基因第 15 内含子发现了 17 457 T>C 和 17 561 C>T 2 个 SNPs,并且 *STAT5a* 基因在多羔绵羊小

尾寒羊乳腺中的表达量明显高于单羔品种藏绵羊<sup>[16]</sup>。

鉴于 *STAT5a* 基因对动物乳腺发育的重要调控作用以及该基因在绵羊上研究基础薄弱,本研究应用 PCR-SSCP(Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)和直接测序法研究 *STAT5a* 基因第 10 内含子(intro 10)和第 12 外显子(exon 12)在 2 个多羔绵羊品种(多浪羊和湖羊)及 1 个单羔绵羊品种(藏绵羊)中的核苷酸序列变异特征和群体遗传特征,以期筛选出有用的分子标记,为绵羊分子育种提供数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取 3 个绵羊品种共 501 只个体(甘肃省甘南州玛曲县藏绵羊 217 只,新疆麦盖提县多浪羊 144 只,浙江省临安市湖羊 140 只),颈静脉采血 1 mL/只,直接滴到 FTA 卡(Whatman BioScience, Middlesex, UK)上,自然风干后置于阴凉处备用。

试验所需的 FTA 卡购自 Whatman 公司(英国), *Taq* DNA 混合酶购自南京诺威赞生物有限公司。9700 型 PCR 仪和 DYCEN-24F 型双垂直电泳仪购自于美国 ABI 公司。其他常规试剂及仪器均为进口或国产分析纯级产品。

### 1.2 血液基因组 DNA 的提取

参照 Zhou 等<sup>[17]</sup>的两步法提取绵羊血样的基因组 DNA,用于 PCR 扩增。

### 1.3 第 10 内含子和第 12 外显子的 PCR 扩增

参照 GenBank 中公布的绵羊 *STAT5a* 基因序列(GenBank 登录号: NC\_019468. 2),用 Premier 5.0 设计引物,引物信息详见表 1,引物特异性用 Blast 检测,引物由华大生物科技有限公司(北京)合成。

PCR 反应体系: 1.2 mm DNA disk 1 个(约 100 ng/ $\mu$ L), 5 U/ $\mu$ L *Taq* DNA 混合酶 10  $\mu$ L, 0.25  $\mu$ mol/L 上、下游引物各 0.8  $\mu$ L, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 20  $\mu$ L; PCR 反应程序: 94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 61  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 35 个循环;

72 ℃终延伸 7 min;4 ℃保存<sup>[15]</sup>。扩增在 9700 型凝胶电泳检测。  
PCR 仪中进行。PCR 扩增产物采用 1.5% 琼脂糖

表 1 绵羊 *STAT5a* 引物信息

Table 1 Primers information of sheep *STAT5a* gene

| 引物名称<br>Name of primer | 引物序列(5'→3')<br>Sequence of primer(5'→3')          | 退火温度/℃<br>Annealing temperature | 扩增区域<br>Amplified region | 片段长度/bp<br>Length |
|------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|-------------------|
| P1                     | F:TGAAGACCCAGACCAAGTTC<br>R:TCCTGGGACACCTAATAGTGA | 61                              | 第 10 内含子 Intron 10       | 329               |
| P2                     | F:GAGCTGAGTCCTGGGTCTTT<br>R:CCTTCACCTGGAACACAAGC  | 61                              | 第 12 外显子 Exon 12         | 202               |

1.4 PCR-SSCP 电泳检测

在 200 μL PCR 管中加入 3 μL PCR 产物和 7 μL 上样缓冲液(体积分数 98%的去离子甲酰胺、0.025%二甲苯氰、体积分数 0.025%溴酚蓝和 10 mmol/L EDTA)混合震荡,在加热器上 105 ℃变性 5 min,然后立即置于冰水混合物中,迅速上样于非变性聚丙烯酰胺凝胶中,第 10 内含子和第 12 外显子的 PCR-SSCP 电泳条件为:14%凝胶,电压分别为 220 和 150 V,室温分别为 4~8 和 8~16 ℃,内循环温度分别为 7 和 12 ℃,电泳时间分别为 19 和 18 h。电泳结束后,根据 Byun 等<sup>[18]</sup>描述的方法将非变性聚丙烯酰胺凝胶银染显色,待条带清晰后对基因型判型,并用凝胶成像系统拍照保存。

1.5 等位基因序列测定

等位基因序列测定方法因杂合子和纯合子而异。如果 SSCP 条带是纯合子,用 PCR 扩增产物直接测序;如果 SSCP 条带是杂合子,根据 Gong 等<sup>[19]</sup>描述的方法进行切胶测序。等位基因序列测定由上海生工生物工程股份有限公司完成。为保证测序的

准确性,各等位基因均选用 2 个不同的个体进行测序。

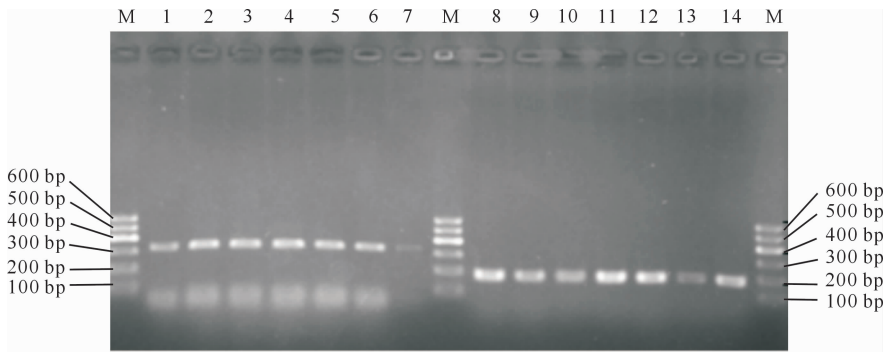
1.6 序列分析与数据统计

应用 MEGA 5.0 软件比对核苷酸序列;应用 Popgene 32 软件计算基因频率、基因型频率、 $\chi^2$  值、纯合度(Homozygosity, Ho)、杂合度(Heterozygosity, He)和有效等位基因数(Effective Number of alleles, Ne);应用 PIC 软件计算多态信息含量(Polymorphism information content, PIC);利用 SPSS 19.0 对不同绵羊品种的基因型分布进行独立性检验分析。

2 结果与分析

2.1 第 10 内含子和第 12 外显子的 PCR 扩增

第 10 内含子和第 12 外显子经 PCR 扩增分别获得了 329 和 202 bp 的片段,片段长度与预期结果一致,扩增效果良好,无非特异性条带(图 1),可用 SSCP 方法进行后续分析。



1~7 为第 10 内含子扩增区域;8~14 为第 12 外显子扩增区域;M. DNA Marker  
1-7 is the intron 10 amplification region;8-14 is the exon 12 amplification region;M. DNA Marker

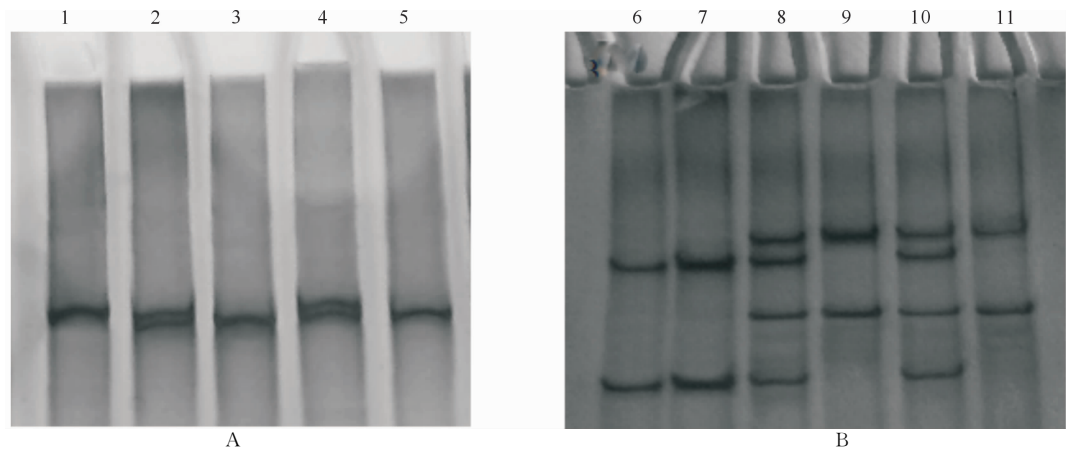
图 1 绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子和第 12 外显子 PCR 扩增结果

Fig.1 PCR amplification of the intron 10 and exon 12 of *STAT5a* gene in sheep

2.2 第 10 内含子和第 12 外显子的 SSCP 检测

对 3 个绵羊群体 *STAT5a* 基因的 2 个扩增区域进行 SSCP 检测。检测结果表明在 2 个扩增区域均检测到 3 种基因型和 2 个等位基因,其中第 10 内

含子中检测到的基因型是 AA、GG 和 AG,等位基因是 A 和 G;第 12 外显子中检测到的基因型是 MM、NN 和 MN,等位基因是 M 和 N(图 2)。



1 为 AA 型,2 和 4 为 AG 型,3 和 5 为 GG 型;6 和 7 为 MM 型,8 和 10 为 MN 型,9 和 11 为 NN 型  
1 is AA genotype,2 and 4 are AG genotypes,3 and 5 are GG genotypes;6 and 7 are MM genotypes,  
8 and 10 are MN genotypes,9 and 11 are NN genotypes

图 2 绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子(A)和第 12 外显子(B)SSCP 检测

Fig. 2 Detection of intron 10 (A) and exon 12 (B) of *STAT5a* gene in sheep by SSCP

测序结果(图 3)表明,在 *STAT5a* 基因的第 10 内含子和第 12 外显子区域各存在 1 个 SNPs,分别是 13 210 A>G 和 14 827 A>G,其中 14 827 A>G 属于同义突变,未引起氨基酸改变。

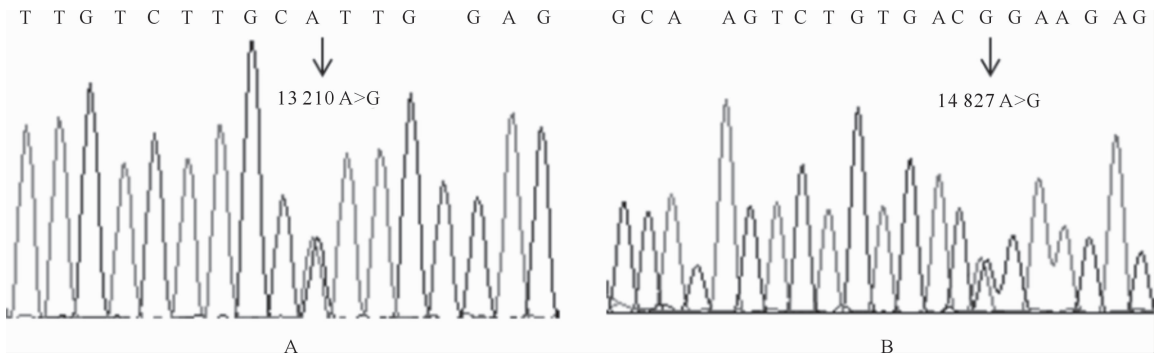


图 3 绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子(A)及第 12 外显子(B)等位基因序列测定

Fig. 3 Sequences of alleles of intron 10 (A) and exon 12 (B) of *STAT5a* gene in sheep

2.3 第 10 内含子和第 12 外显子的遗传多态性分析

2.3.1 等位基因和基因型频率 由表 2 可知,在 *STAT5a* 基因的第 10 内含子区域,只在藏绵羊检测到多态性,发现了 AA、AG 和 GG 3 种基因型,且 AG 为优势等位基因型,等位基因 G 为优势等位基

因;在湖羊和多浪羊中只检测到 AG 基因型。由表 3 可知,在绵羊 *STAT5a* 基因第 12 外显子区域,3 个绵羊群体中均发现了多态性,等位基因 M 和 N 的频率几乎相等,MN 基因型为优势基因型,湖羊和多浪羊 MM 基因型频率显著低于藏绵羊 ( $P<0.05$ )。

表 2 绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子多态性分析

Table 2 Polymorphism analysis of intron 10 of *STAT5a* gene in sheep

| 品种<br>Breeds      | 样品数量/只<br>Number | 等位基因频率/% Allele frequencies |       | 基因型频率/% Genotypic frequencies |       |       |
|-------------------|------------------|-----------------------------|-------|-------------------------------|-------|-------|
|                   |                  | A                           | G     | AA                            | GG    | AG    |
| 藏绵羊 Tibetan Sheep | 217              | 39.86                       | 60.14 | 15.21                         | 35.48 | 49.31 |
| 湖羊 Hu Sheep       | 96               | 50.00                       | 50.00 | 0                             | 0     | 100   |
| 多浪羊 Duolang Sheep | 96               | 50.00                       | 50.00 | 0                             | 0     | 100   |

表 3 绵羊 *STAT5a* 基因第 12 外显子多态性分析

Table 3 Polymorphism analysis of exon 12 of *STAT5a* gene in sheep

| 品种<br>Breeds      | 样品数量/只<br>Number | 等位基因频率/% Allele frequencies |       | 基因型频率/% Genotypic frequencies |       |       |
|-------------------|------------------|-----------------------------|-------|-------------------------------|-------|-------|
|                   |                  | M                           | N     | MM                            | NN    | MN    |
| 藏绵羊 Tibetan sheep | 166              | 48.80                       | 51.20 | 24.10                         | 26.50 | 49.40 |
| 湖羊 Hu sheep       | 140              | 50.00                       | 50.00 | 6.43                          | 6.43  | 87.14 |
| 多浪羊 Duolang sheep | 144              | 50.69                       | 49.31 | 2.78                          | 4.17  | 93.05 |

2.3.2 第 12 外显子区域基因型分布独立性检验

*STAT5a* 基因第 12 外显子在 3 个绵羊品种间基因型频率分布差异显著,具体表现为多羔湖羊和多浪羊的基因型频率与单羔藏绵羊间差异极显著( $\chi^2$  值分别为 48.71 和 69.643),但湖羊与多浪羊之间的基因型分布差异不显著( $\chi^2$  值为 3.030)。

2.3.3 *STAT5a* 基因的遗传多态参数 PIC、Ho、He 和 Ne 是衡量群体遗传多态性的重要指标,度量数值越高,遗传变异就越大,据此可进一步估测群体的选择潜力。由表 4 和表 5 可知,3 个绵羊群体在

第 10 内含子和第 12 外显子中的多态信息含量均处于  $0.25<PIC<0.5$ ,属于中度多态。在 2 个扩增区域中,藏绵羊的卡方值均未达到显著水平( $P>0.05$ ),处于 Hardy-Weinberg 平衡状态;湖羊和多浪羊的卡方值达到显著水平( $P<0.05$ ),偏离了 Hardy-Weinberg 平衡状态。表 4 和 5 中 Ne 反映了有效等位基因数,而 Ho 和 He 表示 *STAT5a* 基因遗传变异程度在多羔绵羊群体湖羊和多浪羊中高于单羔的藏绵羊。

表 4 绵羊 *STAT5a* 基因第 10 内含子遗传参数

Table 4 Genetic parameters of *STAT5a* intron 10 in sheep

| 品种<br>Breeds      | 纯合度<br>Ho | 杂合度<br>He | 有效等位基因数<br>Ne | 多态信息含量<br>PIC | <i>P</i> 值<br><i>P</i> -value |
|-------------------|-----------|-----------|---------------|---------------|-------------------------------|
| 藏绵羊 Tibetan Sheep | 0.506 0   | 0.494 0   | 1.998 8       | 0.364 5       | 0.70                          |
| 湖羊 Hu Sheep       | 0.000 0   | 1.000 0   | 2.000 0       | 0.375 0       | 0.00                          |
| 多浪羊 Duolang Sheep | 0.000 0   | 1.000 0   | 2.000 0       | 0.375 0       | 0.00                          |

表 5 绵羊 *STAT5a* 基因第 12 外显子遗传参数

Table 5 Genetic parameters of *STAT5a* exon 12 in sheep

| 品种<br>Breeds      | 纯合度<br>Ho | 杂合度<br>He | 有效等位基因数<br>Ne | 多态信息含量<br>PIC | <i>P</i> 值<br><i>P</i> -value |
|-------------------|-----------|-----------|---------------|---------------|-------------------------------|
| 藏绵羊 Tibetan Sheep | 0.506 0   | 0.494 0   | 1.998 8       | 0.374 8       | 0.85                          |
| 湖羊 Hu Sheep       | 0.128 6   | 0.871 4   | 2.000 0       | 0.375 0       | 0.00                          |
| 多浪羊 Duolang Sheep | 0.069 4   | 0.930 6   | 1.999 6       | 0.374 9       | 0.00                          |

### 3 讨 论

绵羊乳不但在营养价值方面优于牛乳和山羊乳,在消化吸收方面更有着巨大优势<sup>[20]</sup>。近年来,随着乳制品加工产业的发展及大众对高质量乳制品需求的不断上升,像羊奶这种高质量乳制品一直供不应求。此外,多羔母羊分娩后经常乳汁供应不足,导致羔羊缺乏足够的营养,生长缓慢,甚至死亡,给农牧民带来不必要的经济损失。绵羊泌乳量及泌乳周期属于低遗传力性状,其遗传力分别为 0.113 和 0.126<sup>[21]</sup>,且泌乳周期短、观测较为困难。在生产实践中,产羔数可作为衡量绵羊泌乳量的一个标准,在育种过程中被人们广泛使用。研究表明,绵羊产羔数不同,个体的泌乳量也不同,产多羔母羊的泌乳量比产单羔母羊的泌乳量多 30%~50%<sup>[22]</sup>。湖羊和多浪羊具有稳定的多胎性能,其产羔率分别为

229%和 200%<sup>[23]</sup>;而藏绵羊属于单羔品种,产羔率为 101%。因此研究多羔绵羊品种泌乳性状的遗传机理就显得更为重要。

STAT 家族成员较多,但对泌乳性状起主要作用的是 *STAT5a* 基因,其主要通过 JAK/STAT5 信号转导途径调节乳的生成和乳汁的分泌<sup>[24]</sup>。本试验以 2 个多羔品种(湖羊和多浪羊)和 1 个单羔品种(藏绵羊)为研究对象,在 *STAT5a* 基因第 10 内含子和第 12 外显子区域均检测到 3 种基因型和 2 个等位基因。在 14 827 A>G 位点,湖羊、多浪羊基因型频率均与藏绵羊存在极显著差异( $P<0.01$ ),但湖羊和多浪羊基因型频率之间差异不显著( $P>0.05$ )。这说明 *STAT5a* 基因在选育过程中受到了强烈的人工选择,造成单羔和多羔绵羊品种的基因型分布产生了极显著差异。此外,3 个绵羊群体在 2 个基因区域都处于中度多态,其中湖羊和多浪羊偏

离了 Hardy-Weinberg 平衡状态,说明这 2 个品种受到了较强的选择压力。由于泌乳性状是母羊的主要性状,直接决定了多羔后代的成活率和生长速度。因此在这 2 个多羔品种的育种实践中,泌乳性状作为主要选育性状,必然受到人们的强烈选择,造成了多浪羊和湖羊的该基因处于不平衡状态。藏绵羊属于单羔品种,其泌乳量已能保证单羔个体的正常存活和生长。因此在泌乳性状不作为藏绵羊主要选种性状的情况下,该基因处于平衡状态也很正常。

在本研究检测到的 2 个 SNPs 中,13 210 A>G 处于内含子区域,虽然不能改变编码氨基酸的序列,但仍可以通过其他途径发挥作用。研究发现,内含子区域的变异可能与重要功能区域的 SNPs 相连锁,从而发挥作用。同时,这类 SNPs 还可以影响基因的表达、mRNA 的转运以及 mRNA 的衰老等,从而发挥转录后调控作用<sup>[25-28]</sup>。例如:王以婷等<sup>[29]</sup>发现,细胞色素 P450 3A4 酶(Cytochrome P-450 3A4, CYP3A4)基因第 10 内含子对的核苷酸变异导致了其 mRNA 表达量的下降。Chang<sup>[30]</sup>研究发现,猪肌球蛋白重链(Myosin heavy chain, Myhc)基因内含子中存在重要的调控元件,可以通过调控转录起始来增强宿主基因的表达。同样的,虽然本试验中第 12 外显子的同义突变不引起氨基酸的改变,但是对 mRNA 的表达也具有一定的调控作用。据报道编码区域中的同义突变能影响 mRNA 的稳定性和翻译<sup>[31]</sup>、蛋白质的折叠<sup>[32]</sup>以及初级转录本的结构<sup>[33]</sup>等。因此,本研究发现的 2 个 SNPs 可能对泌乳性状的有影响,但需通过相关的研究来进一步验证。

[参考文献]

[1] James E,Darnell J,Lan M. Jak-STAT pathways and trnascip-tional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins [J]. Science,1994,264(5164):1415-1421.

[2] Schmittney M,Doppler W,Ball R K,et al. Beta-casein gene pro-moter activity is regulated by the hormone-mediated relief of transcriptional repression and a mammary-gland-specific nucle-ar factor [J]. Molecular and Cellular Biology, 1991, 11 (7): 3745-3755.

[3] Miyoshi K,Shillingford J M,Smith G H,et al. Signal transduc-er and activator of transcription(Stat) 5 controls the prolifera-tion and differentiation of mammary alveolar epithelium [J]. Journal of Cell Bilolgy,2001,155(4):531-542.

[4] Bole-Feysot C,Goffin V,Edery M,et al. Prolactin(PRL)and its receptor:actions,signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice [J]. Endocrine Re-views,1998,19(3):225-268.

[5] Boutinaud M,Jammes H. Growth hormone increases Stat5 and

Stat1 expression in lactating goat mammary gland;a specific effect compared to milking frequency [J]. Domestic Animal En-docrinology,2004,27(4):363-378.

[6] Kaplan M H. STAT signaling in inflammation [J]. JAK-STAT,2013,2(1):e24198.

[7] Richard A J,Stephens J M. Emerging roles of JAK-STAT sig-naling pathways in adipocytes [J]. Trends in Endocrinology & Metabolism Tem,2011,22(8):325-332.

[8] 吴贤锋. 山羊 STAT3 和 STAT5A 基因 SNPs、mRNA 表达及甲基化对生产性能的影响 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2015.

Wu X F. SNPs, mRNA expression and DNA methylation of STAT3 and STAT5A genes and their influences on production traits in goats [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F Uni-versity,2015.

[9] Brym P,Kaminski S. New SSCP polymorphism with in bovine STAT5A gene and its associations with milk performance traits [J]. Journal of Applied Genetics,2004,45(4):445-452.

[10] 何 峰,孙东晓,余 英,等. 荷斯坦奶牛 STAT5A 基因的 SNPs 检测及其与产奶性状关联分析 [J]. 畜牧兽医学报,2007,38(4):326-331.

He F,Sun D X,Yu Y,et al. SNPs detection of STAT5A gene and association with milk production traits in holstein cattle [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica,2007,38(4):326-331.

[11] 鲍 斌,房兴堂,陈 宏,等. 中国荷斯坦牛 STAT5A 基因多态性与泌乳性状的相关分析 [J]. 中国农业科学,2008,41(6): 1872-1878.

Bao B,Fang X T,Chen H,et al. Polymorphisms of STAT5A gene and its association with milk performance traits in chi-nese holstein cattle [J]. Scientia Agricultura Sinica,2008,41(6):1872-1878.

[12] 季 敏,刘学洪,余长林,等. 槟榔江水牛 STAT5A 基因多态性及其与产奶性状的关联性研究 [J]. 中国牛业科学,2013,39(4):29-35.

Ji M,Liu X H,Yu C L,et al. Association of STAT5A poly-morphism and milk production traits in binlangjiang buffalo [J]. China Cattle Science,2013,39(4):29-35.

[13] 刘园峰,王桂芝,李秋梅,等. 崂山奶山羊 LEP 和 STAT5a 基因对泌乳和生长性状的影响 [J]. 中国农业科学,2013,46(18):3946-3954.

Liu Y F,Wang G Z,Li Q M,et al. The effect of LEP and STAT5a genes on milk and growth traits of laoshan dairy goat [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46 (18) : 3946-3954.

[14] 谢海强,孙岩岩,龚 俞,等. 贵州黑山羊 STAT5A 基因多态性及其与生长性状关联分析 [J]. 生物技术,2014(4):79-83.

Xie H Q,Sun Y Y,Gong Y,et al. Association analysis be-tween polymorphism of STAT5A gene and growth traits in guizhou black goat [J]. Biotechnology,2014(4):79-83.

[15] Li H,Zheng H L. Signal transducer and activator of transcrip-tion 5a inhibited by pimozone may regulate survival of goat

mammary gland epithelial cells by regulating parathyroid hormone-related protein [J]. *Gene*,2014,51(2):279-289.

[16] 郝志云,王继卿,胡江,等. 绵羊 *STAT5a* 基因的组织表达及核苷酸序列变异分析 [J]. *农业生物技术学报*,2018,26(1):96-103.

Hao Z Y,Wang J Q,Hu J,et al. The tissue expression of the sheep(*ovis aries*)*STAT5a* gene and the analysis of nucleotide sequence variation [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*,2018,26(1):96-103.

[17] Zhou H T,Hickford J G,Fang Q. A two-step procedure for extracting genomic DNA from dried blood spots on filter paper for polymerase chain reaction amplification [J]. *Analytical Biochemistry*,2006,354(1):159-161.

[18] Byun S,Fang Q,Zhou H T,et al. An effective method for silver-staining DNA in large number of polyacrylamide gels [J]. *Analytical Biochemistry*,2009,385(1):174-175.

[19] Gong H,Zhou H T,Hickford J G. Diversity of the glycine/tyrosine-rich keratin-associated protein 6 gene(*KAP6*) family in sheep [J]. *Molecular Biology Reports*,2011,38(1):31-35.

[20] Park Y W,Juárez M,Ramos M,et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk [J]. *Small Ruminant Research*,2007,68(1/2):88-113.

[21] Kaleri R. Heritability estimates for some performances traits of baluchi sheep [J]. *Journal of Basic & Applied Sciences*,2017,13,114-116.

[22] Geenty K G. Effects of weaning age on export lamb production [J]. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*,1979,39:202-210.

[23] 赵有璋. 中国养羊学 [M]. 北京:中国农业出版社,2013.

Zhao Y Z. Chinese sheep science [M]. Beijing:China Agriculture Press,2013.

[24] 李庆章. 奶牛乳腺发育与泌乳生物学 [M]. 北京:科学出版社,2014.

Li Q Z. Mammary gland development and lactation biology of daily cow [M]. Beijing:Science Press,2014.

[25] Nott A,Meislin S H,Moore M J. A quantitative analysis of intron effects on mammalian gene expression [J]. *RNA-a Publication of the RNA Society*,2003,9(5):607-617.

[26] Wang J,Zhou H,Rachel H J,et al. Variation in the ovine *MYF5* gene and its effect on carcass lean meat yield in New Zealand Romney sheep [J]. *Meat Science*,2017,131:146-151.

[27] Gam R,Shah P,Crossland R E,et al. Genetic association of hematopoietic stem cell transplantation outcome beyond histocompatibility genes [J]. *Front Immunol*,2017,8(899/905):380.

[28] Cases E,White S N,Riler D G,et al. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle [J]. *Journal of Animal Science*,2005,83(1):13-19.

[29] 王以婷,杨卫红,赵云龙,等. *CYP3A4* 内含子 10 对 *CYP3A4* 基因表达的增强子作用 [J]. *昆明医科大学学报*,2017,38(1):13-17.

Wang Y T,Yang W H,Zhao Y L,et al. The enhancer role of *CYP3A4* intron 10 in *CYP3A4* gene expression [J]. *Journal of Kunming Medical University*,2017,38(1):13-17.

[30] Chang K C. Critical regulatory domains in intron 2 of porcine sarcomeric myosin heavy chain gene [J]. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*,2000,21:451-461.

[31] Chen S,Li K,Cao W,et al. Codon-resolution analysis reveals a direct and context-dependent impact of individual synonymous mutations on mRNA level [J]. *Molecular Biology & Evolution*,2017,34(11):2944-2958.

[32] Seligmann H,Warthi G. Genetic code optimization for cotranslational protein folding;codon directional asymmetry correlates with antiparallel betasheets,trna synthetase classes [J]. *Computational & Structural Biotechnology Journal*,2017,15:412-424.

[33] Escudero J A,Nivina A,Cambray G,et al. Recoding of synonymous genes to expand evolutionary landscapes requires control of secondary structure affecting translation [J]. *Biotechnology & Bioengineering*,2018,115(1):184-191.

(上接第 6 页)

[24] Sengupta A,Kalinichenko V V,Yutzey K E. FoxO1 and FoxM1 transcription factors have antagonistic functions in neonatal cardiomyocyte cell-cycle withdrawal and *IGF1* gene regulation [J]. *Circ Res*,2013,112(2):267-277.

[25] Tang Y L,Huang L B,Lin W H,et al. Butein inhibits cell proliferation and induces cell cycle arrest in acute lymphoblastic leukemia via FOXO3a/p27kip1 pathway [J]. *Oncotarget*,2016,7(14):18651.

[26] Ho W,Pikor L,Gao Y,et al. Calpain 2 regulates Akt-FoxOp27Kip1 protein signaling pathway in mammary carcinoma [J]. *Journal of Biological Chemistry*,2012,287(19):15458-15465.

[27] Fingar D C,Salama S,Tsou C,et al. Mammalian cell size is controlled by mTOR and its downstream targets S6K1 and 4EBP1/eIF4E [J]. *Genes Dev*,2002,16(12):1472-1487.

[28] Beck T,Hall M N. The TOR signalling pathway controls nuclear localization of nutrient regulated transcription factors [J]. *Nature*,1999,402(6762):689-692.

[29] Fingar D C,Richardson C J,Tee A R,et al. mTOR controls cell cycle progression through its cell growth effectors S6K1 and 4E-BP1/eukaryotic translation initiation factor 4E [J]. *Mol Cell Biol*,2004,24(1):200-216.