

太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区的序列特征 及其表达规律研究

何永新,陈玉林,姜 维,薛 鹏

(西北农林科技大学 动物科技学院,陕西 杨凌 712100)

[摘 要] **【目的】**克隆太行黑山羊成纤维细胞生长因子 5(*FGF5*)基因 CDs 区,并对其进行序列特征分析和实时荧光定量表达检测。**【方法】**于 2009 年的 7~10 月份采集太行黑山羊的皮肤组织样品,利用 RT-PCR 方法克隆 *FGF5* 基因 CDs 区序列,并分析其序列特征及在不同生长发育时期的表达情况。**【结果】**太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区全序列长度为 813 bp,编码 270 个氨基酸,其中包含一个 FGF 结构域(87~221 位氨基酸);太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区核苷酸序列与牛、马、人、猩猩和小鼠的同源性分别为 98%,92%,90%,90%和 86%,其编码氨基酸序列与牛、马、人、猩猩和小鼠的同源性分别为 98%,91%,91%,91%和 91%;实时荧光定量分析结果表明,在检测的 4 个月份的皮肤组织中,*FGF5* 基因在 9 月份表达量显著高于 7、8、10 月份($P<0.05$),而 7、8、10 月份之间表达量无显著差异($P>0.05$)。**【结论】**太行黑山羊的 *FGF5* 基因编码的氨基酸高度保守;太行黑山羊毛囊发育在 7、8 月份处于生长期,9 月份由生长期向退行期过渡,10 月份进入退行期。

[关键词] 太行黑山羊;*FGF5* 基因;RT-PCR;基因序列;氨基酸序列

[中图分类号] S826;Q636

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)12-0045-06

Study on sequence characterization and expression pattern of Taihang black goat *FGF5* CDs region

HE Yong-xin, CHEN Yu-lin, JIANG Wei, XUE Peng

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】**The CDs region of Taihang black goat Fibroblast Growth Factor5 (*FGF5*) gene was cloned and the sequence characterization and quantitative analysis were performed. **【Method】**The skin tissue of Taihang black goat was collected in July, August, September and October. The CDs region was cloned from total RNA by RT-PCR. The sequence characterization and expression of follicle growth in different development periods of *FGF5* gene were performed. **【Result】**The CDs region of *FGF5* in Taihang black goat consisted of 813 nucleotides encoding 270 amino acids with a FGF domain from 87—221 amino acids. The nucleotides sequence homology of *FGF5* CDs of Taihang black goat was found to be 98%, 92%, 90%, 90% and 86% compared with that of bovine, horse, human, orangutan and mouse, while the amino acid sequence homology was 98%, 91%, 91%, 91% and 91% respectively; The result of real-time quantitative PCR showed, the *FGF5* was highly expressed in September, significantly higher than July, August and October ($P<0.05$), but there was no significant difference between these three months ($P>0.05$). **【Conclusion】**The amino acids coded by the gene *FGF5* are highly conserved in Taihang black goat. The result of real-time quantitative indicated that the follicle development of Taihang black goat is in anagen in July and

* [收稿日期] 2010-05-12

[基金项目] 农业部转基因生物新品种培育科技重大专项“高产绒量转基因绒山羊新品种培育”(2008ZX08008-002)

[作者简介] 何永新(1984—),女,山西吕梁人,在读硕士,主要从事动物遗传资源研究。E-mail: gexin. he1314@163.com

[通信作者] 陈玉林(1964—),男,河南鄢陵人,教授,博士生导师,主要从事动物遗传资源研究。E-mail: myxy11@263.net

August,followed by the transition of anagen and catagen in September,and catagen in October.

Key words: Taihang black goat;*FGF5* gene;RT-PCR;gene sequence;amino acid sequence

绒毛用羊的毛囊发育及被毛品质一直是备受关注的研究热点。长期以来,人们认为哺乳动物的毛囊发育在一年中周期性地经历生长期、退行期和休止期的变化^[1]。有研究表明,许多细胞因子如成纤维细胞生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)、转化生长因子 α (TGF α)和胰岛素生长因子 I (IGF- I) 等对毛囊周期性的生长发育和被毛形态具有调控作用。一般认为,成纤维细胞生长因子中的 FGF5 可以调节动物毛囊生长期的长短,进而影响毛囊发育的周期性变化和被毛生长^[2]。Hebert 等^[3]和 Sundberg 等^[4]研究发现,*FGF5* 基因部分片段的缺失可引起毛囊发育退行期延迟,进而导致小鼠被毛变长,说明 *FGF5* 基因在毛囊生长发育中具有重要作用。

原位杂交、Northern-blotting、RT-PCR 等技术只可定性检测 mRNA 的表达水平^[5-6],随着实时荧光定量 PCR 技术(Real-time quantitative PCR,real-time Q-PCR)的发展,定量检测 mRNA 的表达水平成为可能。分布于我国太行山周边地区的太行黑山羊属于地方绒山羊品种,被毛为混型毛,毛色黑亮,所产紫绒纤维细长,受人工选择的影响较低,品种特征比较明显。目前,关于该羊 *FGF5* 基因的克隆及表达模式的研究尚未见报道。为此,本试验采用 RT-PCR 技术对太行黑山羊 *FGF5* 基因进行了克隆分析,并利用 real-time Q-PCR 技术对其表达情况进行了检测,以期对太行黑山羊 *FGF5* 基因的功能研究提供基础分子生物学信息,并为毛囊生长周期特点的阐明奠定基础。

表 1 PCR 引物的相关信息

Table 1 Primer sequences and corresponding PCR product size and anneal temperature				
引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence	产物长度/bp Products length	退火温度/℃ T _m	用途 Purpose
FGF5-1	F:ATGAGCTTGTCTTCCTCCT R:TTAACCAAAGCGAAACTTG	813	55.8	cDNA 克隆 cDNA cloning
FGF5-2	F:AAAAGACTGGGCGGGAGTG R:ATCTTGGCAGAAAGTGGGTAGAG	112	56.0	实时定量 Real-time quantitative
β -actin	F:TGAACCCCAAGCCAACC R:AGAGGCGTACAGGGACAGCA	107	56.0	实时定量 Real-time quantitative

1.4 *FGF5* 基因 CDs 区的克隆

以皮肤组织总 RNA 为模板,用 TaKaRa PrimeScript™ RT Kit 进行反转录,合成 cDNA 第一链。以制备的 cDNA 为模板,以 FGF5-1 为引物,PCR 扩增 *FGF5* 基因 CDs 区全序列。反应体系为 25 μ L: 10 $\times$ PCR 缓冲液 2.5 μ L, MgCl₂ (25 mmol/L) 1.5 μ L, dNTPs (10 mmol/L) 2.0 μ L,

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验样品 供试太行黑山羊(周岁公羊 3 只)购于山西省晋城市沁水示范牧场,饲养在陕西蒲城县陈庄镇群丰养殖场。分别于 2009-07-29、08-31、09-29、10-29,活体采集 3 只供试公羊体侧部皮肤组织(3 cm²),立即在 DEPC 处理水中剪碎,锡箔纸包裹,迅速投入液氮中,带回实验室置-80℃冰箱中保存备用。

1.1.2 主要试剂 Trizol Reagent(美国 Invitrogen 公司)、克隆载体(pGEM-T Vector,西安沃尔森公司)、核酸回收试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司)、PrimeScript™ RT reagent Kit (TaKaRa 公司)、*Taq* DNA 聚合酶(大连宝生物公司)、*E. coli* DH5 α 菌株(TIANGEN 公司)。

1.2 总 RNA 的提取及质量检测

在研钵中研磨样品,采用 Trizol 法^[7]提取皮肤组织总 RNA;电泳检测其完整性,用 NANODROP 1000 检测其纯度和浓度。

1.3 引物的设计与合成

根据 GenBank 已发表的牛 *FGF5* 基因序列(GenBank 号:NM_001078011),利用 Primer 5.0 软件设计 PCR 引物,用以扩增 *FGF5* 基因 CDs 区全长;同时以牛的 β actin 基因序列(GenBank 号:AY141970)为模板,设计羊 β actin 引物。引物由上海生物工程有限公司合成,其相关信息见表 1。

Taq DNA 聚合酶(5 U/ μ L) 0.2 μ L, cDNA 模板(100 ng/ μ L) 1.0 μ L,上、下游引物(25 pmol/L)各 2.0 μ L, ddH₂O 13.8 μ L。反应条件:95℃ 5 min;95℃ 45 s,55.8℃ 30 s,72℃ 2 min,34 个循环;72℃ 10 min,4℃ 保存。PCR 产物用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,并用琼脂糖 DNA 回收试剂盒纯化回收扩增产物。在 T4 DNA 连接酶的作用下,

将纯化产物与 pGEM-T Vector 于 16 ℃ 恒温循环水浴系统连接 12 h 以上,将连接产物电击转化至 DH5 α 感受态细胞中,经蓝白斑筛选挑取阳性克隆,置于 3 mL 含氨苄青霉素的 LB 液体培养基中,37 ℃ 摇菌 12 h;参照 BIOMIGA 质粒提取试剂盒说明提取质粒,将所提质粒送至上海生工生物工程技术服务有限公司利用通用引物 M13 进行双向测序。

1.5 *FGF5* 基因 CDs 区的序列分析

将测序所得 *FGF5* 基因 CDs 区序列用 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)、DNA Star 软件、Bio Edit 软件等与其他物种进行核苷酸序列及氨基酸序列同源性分析。

1.6 不同时期皮肤毛囊 *FGF5* 基因 mRNA 表达的实时荧光定量 PCR 检测

以供试羊皮肤组织样品总 RNA 反转录获得的 cDNA 为 PCR 反应模板,进行实时荧光定量 PCR 检测,每只羊为一个重复,共设 3 个重复。PCR 引物为 *FGF5*-2,反应体系为 20 μ L,其中 TaKaRa SYBR 2X premix Ex *Taq* 酶 10 μ L,cDNA 模板 2 μ L,上、下游引物各 0.8 μ L,ddH $_2$ O 6.4 μ L。反应程序为:94 ℃ 2 min;94 ℃ 18 s,56 ℃ 18 s,72 ℃ 20

s,40 个循环。
扩增信号经惰性燃料 ROX 校正后,采用 Mx-Pro 软件确定各个孔的循环阈值(*C_t*),计算其平均值。以 *FGF5* 基因在各模板中的 *C_t* 值减去相应 β -*actin* 的 *C_t* 值,计算出 *FGF5* 基因的 ΔC_t ,使用 $Power(2,-\Delta C_t)$ 公式计算 *FGF5* 基因 mRNA 在 4 个不同发育时期的相对表达量,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示,统计分析用 SPSS16.0 软件完成。

2 结果与分析

2.1 总 RNA 的提取与 cDNA 片段的 RT-PCR 扩增

提取的太行黑山羊皮肤组织总 RNA 经 NAN-ODROP 1000 检测,OD $_{260}$ /OD $_{280}$ 值在 1.9~2.1,表明 RNA 纯度较高;经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测发现,28 S、18 S 片段条带清晰完整,5 S 条带较淡(图 1)。对提取的总 RNA 进行反转录,以反转录产物为模板进行 PCR 扩增,获得太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区全序列,经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,长度约为 800 bp(图 2),与目的基因预期 CDs 区片段长度基本一致。

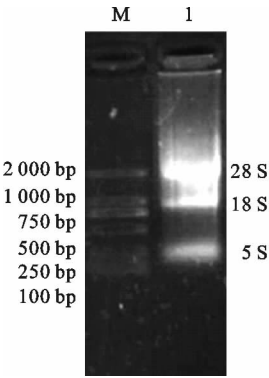


图 1 太行黑山羊皮肤组织总 RNA 的琼脂糖凝胶电泳检测
M. DNA Marker DL2000;1. 总 RNA

Fig. 1 The examination of total RNA in Taihang black goat skin tissue
M. DNA Marker DL2000;1. Total RNA

2.2 *FGF5* 基因核苷酸序列和编码氨基酸序列分析

用 DNA Star 软件的 EditSeq 程序分析表明,太行黑山羊 *FGF5* CDs 区全序列长度为 813 bp,为一个完整的开放阅读框,该基因的 A、C、G、T 4 种碱基数分别为 201,236,210,166,出现频率大小为:C (29.03%) > G (25.83%) > A (24.72%) > T (20.42%);A+T 含量为 45.14%,G+C 含量为

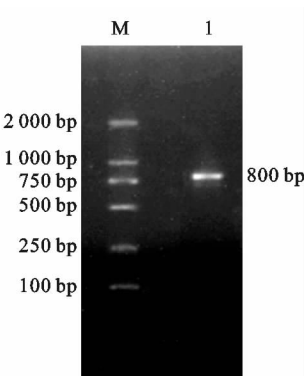


图 2 太行黑山羊 *FGF5* CDs 区的 PCR 扩增
M. DNA Marker DL2000;1. 太行黑山羊 *FGF5* CDs 区

Fig. 2 The product of RT-PCR amplified of *FGF5* CDs region in Taihang black goat
M. DNA Marker DL2000;1. Taihang black goat *FGF5* CDs

54.86%。
太行黑山羊 *FGF5* CDs 区核苷酸编码 270 个氨基酸,其组成与含量分析结果(表 2)显示,丝氨酸(S)最多,为 39 个,含量为 14.44%;色氨酸(W)、半胱氨酸(C)、蛋氨酸(M)和天冬氨酸(D)最少,均为 3 个,含量最低,均为 1.11%。可见,*FGF5* 基因 CDs 区编码的蛋白质中,20 种氨基酸的含量差异很大。

表 2 太行黑山羊 FGF5 蛋白质氨基酸组成

Table 2 Composition of amino acids in FGF5 protein in Taihang black goat

项目 Item	氨基酸 Amino acids									
	Ala(A)	Cys(C)	Asp(D)	Glu(E)	Phe(F)	Gly(G)	His(H)	Ile(I)	Lys(K)	Leu(L)
个数 No	20	3	3	12	15	24	7	8	22	21
百分比/% Percentage	7.41	1.11	1.11	4.44	5.56	8.89	2.59	2.96	8.15	7.78

项目 Item	氨基酸 Amino acids									
	Met(M)	Asn(N)	Pro(P)	Gln(Q)	Arg(R)	Ser(S)	Thr(T)	Val(V)	Trp(W)	Tyr(Y)
个数 No	3	9	20	10	21	39	11	13	3	6
百分比/% Percentage	1.11	3.33	7.41	3.70	7.78	14.44	4.07	4.81	1.11	2.22

2.3 FGF5 CDs 区序列的同源性比对及系统发育分析

在 NCBI 数据库中检索获得牛 (NM_001078011)、马 (XM_001492556)、人 (NM_004464.3)、猩猩 (XM_526572.2) 和小鼠 (NM_010203.4) 等 5 个物种 FGF5 完整的 CDs 区序列, 利用 Bio Edit 软件将太行黑山羊 FGF5 基因 CDs 序列与以上 5 个物种的序列进行同源性比对, 结果表明, 太行黑山羊 FGF5 基因 CDs 区核苷酸序列与牛、马、人、猩猩和小鼠的同源性分别为 98%, 92%, 90%, 90% 和 86%; 其编码氨基酸序列与牛、马、人、

猩猩和小鼠的同源性分别为 98%, 91%, 91%, 91% 和 91% (图 3); 通过比对发现, 在 FGF5 氨基酸 60 位处, 山羊和牛比人、小鼠、猩猩多出 1 个脯氨酸 (P), 马比其多出 1 个丝氨酸 (S); 同时发现 FGF5 氨基酸序列中心区域 (95~212 位) 近 120 个氨基酸残基高度保守, 符合脊椎动物 FGFs 家族的氨基酸序列特点^[8]。

用 DNA Star 软件的 MegAlign 程序, 构建 FGF5 基因氨基酸序列的系统发育树, 结果见图 4。图 4 表明, 太行黑山羊与牛亲缘关系最近, 其次为马、人和猩猩、小鼠。

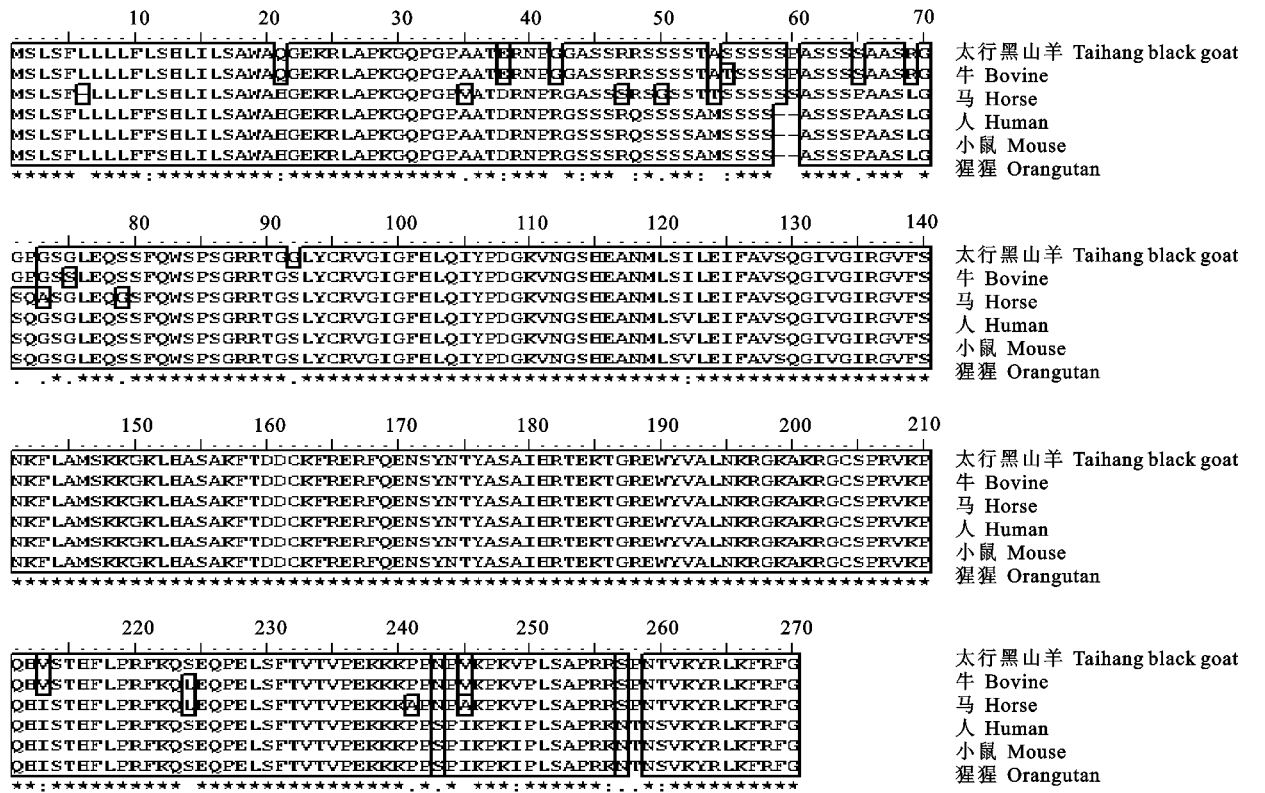


图 3 太行黑山羊与其他 5 个物种间 FGF5 氨基酸序列的比对结果

图中黑框之外和黑框中的方框部分为非同源区域

Fig. 3 Alignment of FGF5 amino acid sequences among Taihang black goat and other 5 species

Out of the black frame is heteroieous region

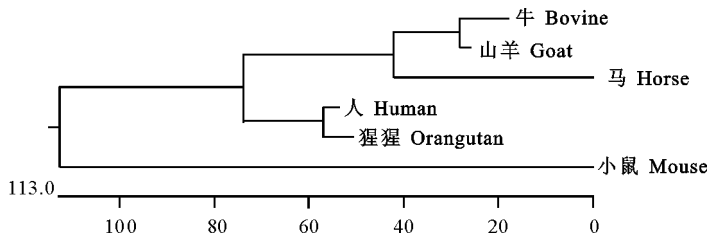


图 4 太行黑山羊与其他哺乳动物 *FGF5* 氨基酸序列的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *FGF5* amino acid of Taihang black goat and other mammals

2.4 太行黑山羊 *FGF5* 蛋白理化性质分析

用 ExPaSy ProtParam 程序对 *FGF5* 蛋白质理化性质进行预测,发现该蛋白分子质量为 29 540.7 u,理论等电点 (pI) 为 10.67,带负电荷残基总数 (Asp+Glu) 为 15,带正电荷残基总数 (Arg+Lys) 为 43。分子式为 $C_{1312}H_{2081}N_{391}O_{376}S_6$,总原子数为 4 166,半衰期约为 30 h。

利用 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)对蛋白质结构域进行在线预测,结果表明,太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区序列编码的蛋白质 87~221 位氨基酸区域为 FGF 结构域。

利用 Signal P 软件中的神经网络法和隐马可夫模型预测显示,*FGF5* 蛋白质 N 端的 1~21 位氨基酸为一经典的信号肽序列,表明该蛋白为分泌性蛋白。

2.5 4 个不同发育时期 *FGF5* 基因 mRNA 的表达量分析

实时荧光定量 PCR 结果见图 5。

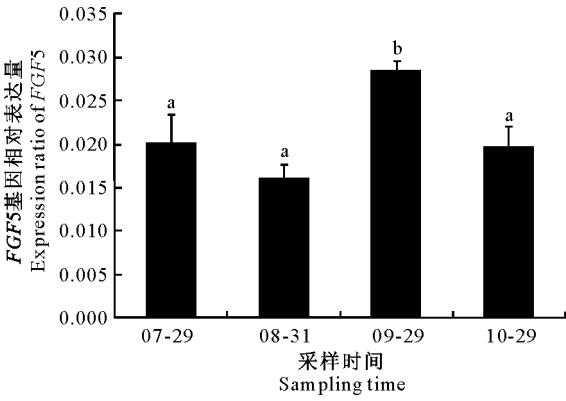


图 5 太行黑山羊皮肤毛囊不同时期 *FGF5* 基因的相对表达量
不同小写字母表示差异显著

Fig. 5 Quantitative expression of *FGF5* of Taihang black goat in different period of follicle development
Different small letters means significant different

图 5 显示,*FGF5* 基因在 7 月底、8 月底、9 月底、10 月底的表达量分别为 $0.019\ 906\pm\ 0.003$, $0.015\ 713\pm\ 0.001$, $0.028\ 374\pm\ 0.001$, $0.019\ 466\pm\ 0.001$ 。

统计结果显示,9 月 *FGF5* 表达量最高,显著高于 7、8 和 10 月 ($P<0.05$),而 7、8 和 10 月份之间无明显差异 ($P>0.05$)。表明太行黑山羊毛囊发育在 7、8 月份处于生长期,在 9 月份由生长期向退行期过度,10 月份进入退行期。

3 讨论

本研究采用 RT-PCR 方法,以太行黑山羊皮肤组织为试验材料,克隆了 *FGF5* 基因的 CDs 区序列。高爱琴等^[9]也曾克隆得到山羊 *FGF5* 基因的 CDs 全长序列,但他们是山羊脑组织为材料,分别克隆了 *FGF5* 基因的外显子和内含子,然后通过电子拼接的方法将 3 个外显子拼接得到 *FGF5* 基因的 CDs 全长序列,这与本研究直接克隆获得 *FGF5* 基因 CDs 全长序列有所区别。本研究发现,太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区全长 813 bp,编码 270 个氨基酸,其中第 87~221 位氨基酸区域为 FGF 结构域。通过核苷酸序列和氨基酸序列同源性分析发现,太行黑山羊 *FGF5* 基因 CDs 区核苷酸序列与牛、马、人、猩猩和小鼠的同源性分别为 98%,92%,90%,90%和 86%;其氨基酸序列与牛、马、人、猩猩和小鼠的同源性分别为 98%,91%,91%,91%和 91%。*FGF5* 基因编码的氨基酸非常保守,特别是 FGF 结构域所在的 87~221 氨基酸区域,仅在第 92 和第 213 个氨基酸处存在差异,其余完全相同。由此推测,这些保守区域对 *FGF5* 基因的结构和功能至关重要。

Foster 等^[10]研究发现,基于氨基酸序列的系统发育树分析比核苷酸序列分析更为可靠,因为碱基序列常有突变、缺失等现象,但这些突变不一定引起氨基酸序列的变化。本试验利用 DNA Star 软件的 MegAlign 程序构建了基于 *FGF5* 蛋白氨基酸序列的系统发育树,结果表明,山羊、牛、马、人、猩猩和小鼠在进化关系上可分为 3 大群:山羊和牛、马形成第 1 群,人和猩猩形成第 2 群,小鼠为第 3 群,山羊和牛的亲缘关系最近,这与核苷酸序列的同源性分析

结果相一致。

在哺乳动物毛囊的周期性生长过程中,生长期毛囊生长,毛发合成;退行期毛囊退化,皮肤变薄;休止期毛囊和皮肤处于休眠状态,然后重新开始下一个生长周期^[2]。已有文献报道,*FGF5* 基因的表达量直接影响毛囊生长期的长短,从而影响被毛长度^[2],Rosenquist 等^[11]在鼠上研究发现,*FGF5* 可诱导毛乳头,促进生长期毛囊向退行期转化。本研究参考李玉荣^[12]关于内蒙古绒山羊毛囊生长周期的划分,分别于 2009 年 7 月底、8 月底、9 月底、10 月底采集太行黑山羊皮肤组织样品,应用 real-time Q-PCR 对 *FGF5* 基因 mRNA 的表达水平进行检测,结果表明,9 月底表达水平显著高于 7 月、8 月、10 月 3 个时期。该检测结果与高爱琴等^[13]应用 RT-PCR 法定性检测到 *FGF5* 基因 mRNA 在绒山羊毛囊生长旺盛期和退行期均有表达的结论相一致。将定量检测结果与 *FGF5* 基因在鼠毛囊周期性生长中的作用相结合,可推测太行黑山羊毛囊在 7、8 月份处于生长期,到了 9 月底,*FGF5* 因子表达量增加,诱导毛囊发育由生长期向退行期转化,10 月进入退行期。有关太行黑山羊绒毛生长周期性变化的机理尚待进一步探明。毛囊生长期的长短决定绒毛长度,绒毛长度影响其产量,因此阐明太行黑山羊绒毛生长周期特点,并在生产实践中加以利用,可在理论和实践上为提高该品种的生产性能提供依据。

[参考文献]

[1] Ryan A F. The cell cycle and the development and regeneration of hair cells [J]. Current Topics in Developmental Biology, 2003,57:449-466.

[2] Petho Schramm A, Muller H J, Pans R, et al. FGF5 and the murine hair cycle [J]. Arch Dermatol Res, 1996, 288(5/6): 264-266.

[3] Hebert J M, Rosenquist T, Gotz J, et al. FGF5 as a regulator of the hair growth cycle; evidence form targeted and spontaneous

mutation [J]. Cell, 1994, 78(6): 1017-1025.

[4] Sundberg J P, Rourk M H, Boggess D, et al. Angora mouse mutation; altered hair cycle, follicular dystrophy, phenotypic maintenance of skin grafts, and changes in keratin expression [J]. Veterinary Pathoiogy (Vet Pathol), 1997, 34(3): 171-179.

[5] Khosla C, Bailey J E. Mol gene [J]. Genetics, 1988, 214: 158-161.

[6] Whelan J A, Russell N B, Whelan M A. A method for the absolute quantification of cDNA using real-time PCR [J]. J Immunol Methods, 2003, 278(1/2): 261-269.

[7] Eileen D W, Gilby K L, Howlett S E, et al. Isolation of total cellular RNA from brain tissue [J]. Practical Approach Series, 2001, 10: 1-2.

[8] Benharroch D. Biology of the fibroblast growth factor gene family [J]. Isr J Med Sci, 1990, 26(4): 212-219.

[9] 高爱琴, 李 宁, 李金泉, 等. 山羊 *FGF5* 基因 cDNA 分子克隆及序列分析 [J]. 内蒙古大学学报, 2006, 37(2): 180-184.

Gao A Q, Li N, Li J Q, et al. The cDNA clone of goat *FGF5* gene and sequence analysis [J]. Journal of Inner Mongolia University, 2006, 37(2): 180-184. (in Chinese)

[10] Foster P G, Hickey D A. Compositional bias may affect both DNA-based and protein-based phylogenetic reconstructions [J]. Molecular Evolution, 1999, 48(3): 284-290.

[11] Rosenquist T A, Martin G R. Fibroblast growth factor signaling in the hair growth cycle: expression of the fibroblast growth factor receptor and ligand genes in the murine hair follicle [J]. Dev Dyn, 1996, 205: 379-386.

[12] 李玉荣. 内蒙古绒山羊不同时期皮肤中相关基因差异表达及原位杂交的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008.

Li Y R. Study on difference expressing and in situ hybrition of skin correlational gene in Inner Mongolian cashmere goat at different stage [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2008. (in Chinese)

[13] 高爱琴, 李 宁, 李金泉, 等. 不同发育阶段绒山羊皮肤中 *FGF5* 基因 mRNA 表达的 RT-PCR 检测 [J]. 华北农学报, 2008, 23(1): 36-37.

Gao A Q, Li N, Li J Q, et al. The *FGF5* gene mRNA expression in cashmere goat skin tissue [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2008, 23(1): 36-37. (in Chinese)