

版纳微型猪近交系 *KITLG* 基因克隆、组织表达及功能特性分析*

张霞^{1,2#}, 王淑燕^{1,2#}, 王配^{1,2}, 查星琴^{1,3}, 潘伟荣^{1,2}, 霍金龙^{1,2**}

(1. 云南农业大学, 云南省版纳微型猪近交系重点实验室, 云南昆明 650201;

2. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南昆明 650201;

3. 云南农业大学 动物医学院, 云南昆明 650201)

摘要:【目的】研究 *KITLG* 基因在猪生殖细胞发育过程中的作用。【方法】从 GenBank 下载猪 *KITLG* 序列作为参考序列, 设计特异引物从版纳微型猪近交系 (BMI) 附睾组织中扩增 *KITLG* 基因完全编码序列及部分侧翼序列; 应用半定量 PCR 技术检测 BMI 10 个重要组织的 *KITLG* mRNA 转录表达水平, 并对 *KITLG* 翻译的蛋白质序列进行多种功能生物信息学分析, 预测 *KITLG* 蛋白质的功能, 最后构建 *KITLG* 的多物种氨基酸系统进化树。【结果】扩增得到 BMI *KITLG* 编码区序列长 825 bp, 编码 274 个氨基酸, 序列已提交 GenBank, 基因登录号 KU705624, 对应的氨基酸登录号 AOC89042。多组织相对半定量表达分析表明: *KITLG* 基因在附睾、心、脾、肺、肾、胃中高表达, 在大脑、肝、小肠和睾丸中低表达。功能生物信息学分析表明: *KITLG* 存在 1 个保守结构域 SCF, 有 1 个跨膜螺旋结构, 存在 N 端信号肽序列, N 末端和 C 末端均亲水, 二级结构以 α 螺旋为主, 有 5 类功能活性位点。系统进化分析表明: *KITLG* 在进化中高度保守, 且与牛、羊的亲缘关系最近。【结论】研究结果为探索 BMI *KITLG* 基因在生殖细胞发育过程中的作用及功能奠定基础。

关键词: 干细胞因子; 版纳微型猪近交系; 组织表达; 生物信息学

中图分类号: S 828.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2018) 02-0255-07

Cloning, Tissue Expression and Functional Characteristics of the *KITLG* Gene of Banna Mini-pig Inbred Line

ZHANG Xia^{1,2}, WANG Shuyan^{1,2}, WANG Pei^{1,2}, ZHA Xingqin^{1,3},
PAN Weirong^{1,2}, HUO Jinlong^{1,2}

(1. Key Laboratory of Banna Mini-pig Inbred Line of Yunnan Province, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. College of Veterinary Medicine, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: [Purpose] In order to study the role of *KITLG* gene in pig germ cell development. [Methods] Based on GenBank *KITLG* mRNA sequences of pig, the specific primers were designed, and the coding sequences and flanking sequence of *KITLG* gene were amplified from Banna mini-pig inbred line (BMI) epididymis tissues. Semi-quantitative PCR was applied to analyse the

收稿日期: 2017-04-23

修回日期: 2017-06-24

网络出版时间: 2018-04-03

*基金项目: 国家自然科学基金项目 (31660637, 31460580, 31660650)。

作者简介: #对本文贡献等同, 为并列第一作者。张霞 (1990—), 女, 山西宁武人, 在读博士研究生, 主要从事动物分子遗传学研究。E-mail: 2574705914@qq.com; 王淑燕 (1987—), 女, 山东济南人, 硕士, 实验师, 主要从事动物分子遗传学研究。E-mail: shuyanwang2014@126.com

**通信作者 Corresponding author: 霍金龙 (1975—), 男, 山西五寨人, 博士, 副教授, 主要从事动物分子遗传学研究。E-mail: jinlonghuo973@163.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201704035](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201704035)

KITLG gene expression profiles of 10 important tissues. *KITLG* protein sequence was used to carry out functional bioinformatics analysis and construct multiple species phylogenetic tree.

[**Results**] The 825 bp coding sequence of BMI *KITLG* gene was obtained with GenBank accession number KU705624, which encodes a protein of 274 amino acids with GenBank accession number AOC89042. Semi-quantitative PCR in multi-tissues indicated that *KITLG* gene was expressed highly in the epididymis, heart, spleen, lung, kidney, stomach and low expression in the cerebrum, liver, small intestine and testes. Further functional bioinformatics analysis indicated that *KITLG* protein contained one conserved domains SCF with a transmembrane region and a signal peptide sequences. Its N-terminal and C-terminal are hydrophilic and its secondary structure is mostly alpha helices. The *KITLG* protein has five distinct modification sites. Phylogenetic analysis showed that *KITLG* was highly conserved in evolution and had the closest relationship with cattle and sheep.

[**Conclusion**] Our study will lay a foundation for further study of the *KITLG* gene functions in pig germ cell development.

Keywords: stem cell factor (SCF); Banna mini-pig inbred line (BMI); tissue expression; bioinformatics

男性不育已是全球最受关注的疾病之一，而生精障碍是男性不育最常见的病因之一，除了与生精障碍相关的一些遗传因素相关外，信号传导系统方面的研究也倍受关注^[1]。KIT/KITLG 信号系统被认为是生殖细胞生长发育过程中一个不可缺少的信号系统^[2]。该信号通路与造血、生殖细胞的发育密切相关，参与原生殖细胞的迁移、扩散、存活，并且还与其他疾病发生相关，如肥大细胞增多症、癌症、白血病、白化病等^[3-6]。*KIT* 基因是受体酪氨酸激酶家族成员之一，编码干细胞生长因子受体^[7]。*KITLG* 基因，又称为 KIT 配体，是细胞表面锚定因子家族成员之一^[8]。该基因编码的蛋白质与色素的产生、繁殖和血细胞的生成密切相关^[9]。通过 Western-blot 和免疫共沉淀技术，发现 *KITLG* 和 KGF (间充质衍生的角质细胞生长因子) 是相互作用蛋白^[10]。

版纳微型猪近交系 (Banna mini-pig inbred line, BMI) 因其基因高度纯合、遗传背景清楚，生理学、疾病发生机理和解剖学等方面与人类极为相似，从而可为新药临床前安全性评价、猪基因组计划中的功能基因研究、人类疾病动物模型制作和人类异种器官移植等众多领域提供试验材料和器官供体，具有重要的研究应用价值^[11-14]。但在正常繁育 BMI 的 37 年来，有多个亚系断代，前期研究发现是部分公猪不育造成的，这些不育公猪已成为阻碍其群体进一步扩大的障碍，故版纳微型猪近交系雄性不育方面的基础研究是

亟待开展的重要研究方向。基于 *KITLG* 基因在生殖细胞发育方面的重要作用，本研究通过克隆 BMI *KITLG* 基因，确定其核酸序列特征；通过 mRNA 半定量多组织表达谱确定其发挥功能的重要组织；通过对蛋白质进行功能生物信息学分析预测其功能，为今后进一步深入研究 *KITLG* 基因在 BMI 公猪雄性生殖方面的功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品

屠宰 BMI 成年公猪 3 头，取睾丸和附睾 (性腺)，心、肝、脾、肺、肾、胃、小肠、大脑等常规组织，共 10 种重要组织样品。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取和第一链 cDNA 合成

参照说明书利用柱式 RNA 提取试剂盒 (TaKaRa: 9767) 分别提取各组织总 RNA，用核酸蛋白测定仪检测所提 RNA 的浓度及纯度，用琼脂糖凝胶电泳检测所提 RNA 的完整性，合格样品按反转录试剂盒 (TaKaRa: 6210A) 操作说明书反转录为第一链 cDNA 保存备用。

1.2.2 引物设计及合成

根据 GenBank 下载的猪 (NM_214269) *KITLG* mRNA 序列，利用 Oligo 7 软件设计特异引物 (F: 5'-CCAATGCGTGGACTATCTG-3', R: 5'-GCAACAGTGTTGATACAAGC-3') 来扩增 *KITLG* 基因 963 bp，其中包括全长 CDS 及部分 5'和 3'侧翼序

列, 并进行多组织表达谱分析; 以 *18S* 基因为内参 (F: 5'-GGACATCTAAGGGCATCACAG-3'; R: 5'-AATTCCGATAACGAACGAGACT-3') 扩增 145 bp, 利用半定量法分析各组织的表达水平。

1.2.3 RT-PCR 分离 *KITLG* 基因

PCR 反应总体系 25 μ L, 采用 TaKaRa Ex TaqE 体系, 琼脂糖凝胶电泳确定扩增的 *KITLG* 基因片段与引物设计时预期的片段大小吻合, 胶回收后送公司测序。

1.2.4 多组织半定量表达分析

以持家基因 *18S* rRNA 作为内参, 利用半定量 RT-PCR 技术检测 *KITLG* 基因在 BMI 10 种重要组织的表达情况。

利用 Lasergene 软件中的 SeqMan 程序进行组装、拼接、并人工校对, 确定 BMI *KITLG* 基因编码序列并提交 GenBank 数据库, 同时推导出其编码的氨基酸序列; 进行 *KITLG* 蛋白质的功能生物信息学分析, 并采用邻接法构建多物种 *KITLG* 氨基酸序列系统进化树, 系统树中节点的自举置信水平采用 Bootstrap 估计, 采用 1 000 次循环。



注: ATG 表示起始密码子; 上面一行字母和下面一行字母分别表示核酸序列和其对应的氨基酸序列; 下划线表示蛋白质保守结构域: 1~274 AA(SCF); *. 终止子。
Note: ATG. start codon; the upper line letters, nucleotide sequence; the lower line letters, amino acid sequences; underlines. conserved domains: 1~274 AA (SCF); *. stop codon.

图 2 *KITLG* 基因 CDS 核酸序列与对应的氨基酸序列

Fig. 2 The coding sequence and corresponding amino acids sequence of *KITLG*

2.3 多组织半定量表达分析

以 *18S* rRNA 为内参基因, RT-PCR 琼脂糖凝胶电泳半定量检测 *KITLG* 基因在 3 头 BMI 的 10 种组织的 mRNA 转录表达水平。结果表明: *KITLG* 基因 mRNA 在多种组织中广泛表达, 在心、脾、肺、肾、胃、附睾中相对高表达, 在大脑、肝、小肠和睾丸中相对低表达 (图 3)。

2.4 *KITLG* 蛋白质一级结构信息

利用 ProtParam tool 程序获悉 BMI *KITLG* 蛋

2 结果与分析

2.1 *KITLG* 基因扩增结果

以 3 头 BMI 附睾组织 cDNA 为模板, 扩增的 *KITLG* 基因长度为 963 bp (图 1)。

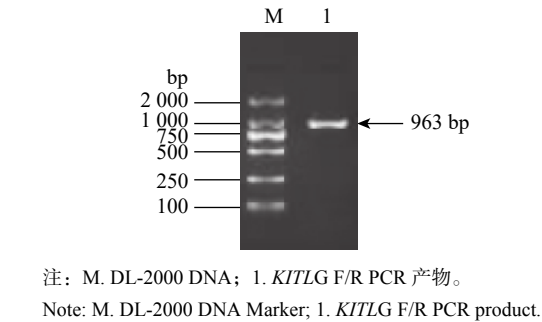


图 1 *KITLG* 基因反转录 PCR 扩增结果
Fig. 1 The RT-PCR result of *KITLG* gene

2.2 *KITLG* 基因序列及其编码的氨基酸序列

利用 F/R 扩增产物测序结果使用 DNASTar 软件中的 SeqMan 程序进行组装, 获得 BMI *KITLG* 全长编码序列 825 bp, GenBank 登录号为 KU705624, 推测其包含 274 个氨基酸, 对应的氨基酸登录号为 AOC89042, 仅含有 1 个保守结构域 SCF (图 2)。

白质的一级结构和部分理化性质 (表 1)。

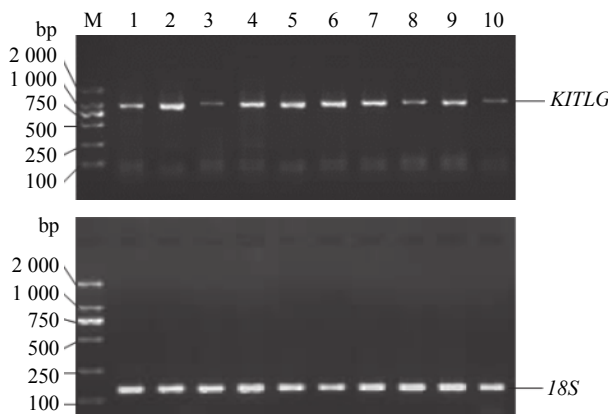
2.5 *KITLG* 蛋白质二级结构

利用 SOPMA 程序预测的 BMI *KITLG* 蛋白质的二级结构为: 48.18% 的 α -螺旋 (含 132 个氨基酸), 33.58% 的无规则卷曲 (含 92 个氨基酸), 13.14% 的延伸链结构 (含 36 个氨基酸), 5.11% 的 β -转角 (含 14 个氨基酸)。

2.6 *KITLG* 蛋白质的疏水性

利用 ProtScale 程序预测 BMI *KITLG* 蛋白质

的疏水、亲水性。结果表明：BMI KITLG 蛋白质 N 末端和 C 末端均亲水，并且第 228 位置有最大疏水值 2.389，第 269 位置有最小疏水值-2.956。



注：M. DL-2000 DNA 分子量标准；1. 大脑；2. 心；3. 肝；4. 脾；5. 肺；6. 肾；7. 胃；8. 小肠；9. 附睾；10. 睾丸。
Note: M. DL-2000 DNA Marker; 1. cerebrum; 2. heart; 3. liver; 4. spleen; 5. lung; 6. kidney; 7. stomach; 8. small intestine; 9. epididymis; 10. testes.

图 3 KITLG 基因半定量多组织表达谱

Fig. 3 The multi-tissues expression distribution of KITLG mRNA

2.7 KITLG 蛋白质功能位点分析

利用 Prosite 程序预测 BMI KITLG 蛋白质功能位点，结果发现：共含有 5 类功能活性位点，包括 N-糖基化位点、cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶、蛋白酶 C、酪蛋白激酶 II 等磷酸化位点和

表 1 KITLG 蛋白质的基本信息

Tab. 1 Primary information of KITLG protein

一级结构特性 primary structure characteristics	预测结果 forecast result
编码的氨基酸数/个 number of amino acids encoded	274
等电点 (PI) isoelectric point	5.32
分子量/KD molecular weight/KD	31.15
负电荷残基 (Asp+Glu) negative charge residue/Asp+Glu	38
正电荷残基 (Arg+Lys) positively charged residues/Arg+Lys	33
分子式 formula	C ₁₃₉₃ H ₂₂₁₇ N ₃₅₉ O ₄₂₃ S ₁₂
不稳定系数 (II) instability index	48.59
平均疏水性 (GRAVY) grand average of hydropathicity	-0.214
脂肪系数 (AI) aliphatic index	91.72

N-十四酰化位点 (表 2)。

2.8 KITLG 蛋白质信号肽和跨膜结构

利用 SignalP 4.1 程序预测 KITLG 蛋白质的信号肽，显示该蛋白质 N 端 1-25 AA (MKKTQT WIITCIYLQLLLFNPLVRT) 是信号肽序列，切割位点位于第 25 AA 与第 26 AA 之间 (图 4)。利用 TMHMM 2.0 程序预测 KITLG 蛋白质的跨膜区，结果显示：在第 216 AA~238 AA 处存在 1 个跨膜螺旋 (图 5)。

表 2 KITLG 蛋白质的功能活性位点

Tab. 2 Functional active site of KITLG protein

活性位点名称 active site	序列号 equence code	氨基酸序列 amino acids position
N-糖基化位点 N-glycosylation site	PS00001	90~93: NISE; 97~100: NYSI; 145~148: NRSI; 196~199: NDSS; 244~247: NLTR
cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化位点 cAMP and cGMP - dependent protein kinase phosphorylation sites	PS00004	124~127: RKsS; 203~206: PKaS
蛋白酶 C 磷酸化位点 protein kinase C phosphorylation site	PS00005	54~56: TIK; 126~128: SsK; 193~195: SIR; 201~203: SnR
酪蛋白激酶 II 磷酸化位点 casein kinase II phosphorylation site	PS00006	80~83: SltD; 99~102: SiiD; 208~211: SieD
N-十四酰化位点 N-tetradecylation sites	PS00008	27~32: GlerNR

2.9 KITLG 蛋白质系统进化树

利用 MEGA 7.0 软件将 BMI KITLG 的蛋白质序列与羊 (*Pantholops hodgsonii*) (XP_005979901)、羊驼 (*Vicugna pacos*) (XP_006197944)、牛 (*Bubalus bubalis*) (NP_001306728)、猫 (*Felis catus*) (NP_001009343)、老虎 (*Panthera tigris altaica*) (XP_015394560)、人 (*Homo sapiens*) (NP_000890) 等 6 个物

种的蛋白质序列进行比对并计算相似度，相似度分别为：95.6%，95.6%，94.5%，91.6%，90.8%，85.7%。并构建 7 个物种的分子系统进化树 (图 6)。

3 讨论

近年来研究发现：KITLG 基因的突变可能会影响生精细胞的发育，该基因 SNP 多态位点与家

族性色素产生过多或者不足及各种癌症都有重要关系^[15-18]。*KITLG* 的功能性多态位点 rs4590952 已经被确定与睾丸癌症易感性相关,该基因在 p53 信号通路中也发挥重要作用^[19-20]。本研究首先以 BMI 附睾

组织的总 RNA 逆转录的 cDNA 为模板,设计保守性特异引物,对 BMI *KITLG* 基因全长编码区进行扩增,获得了预期片段。通过对扩增产物测序并拼接,得到 BMI *KITLG* 基因的 cDNA 序列。

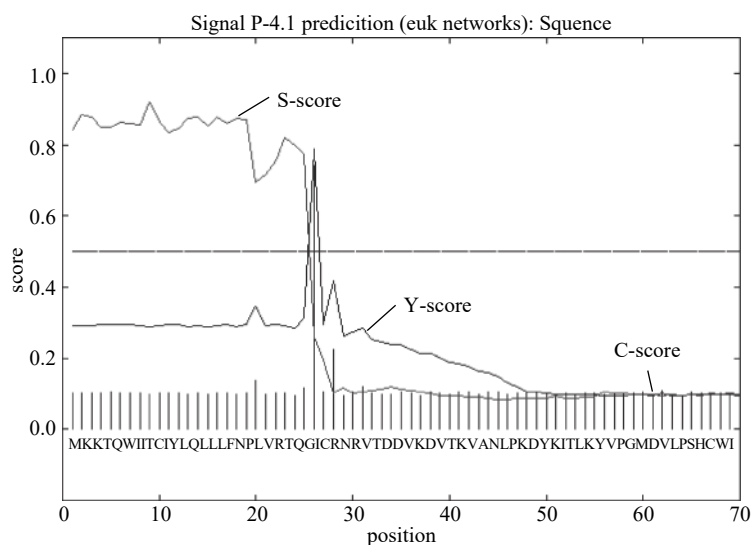


图4 *KITLG* 蛋白质的信号肽分析

Fig. 4 The signal peptide analysis of *KITLG* protein

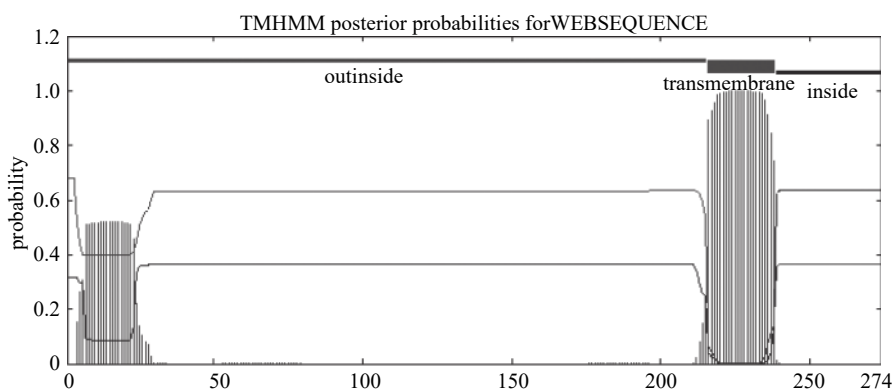


图5 *KITLG* 蛋白质的跨膜结构域

Fig. 5 The transmembrane structure of *KITLG* protein

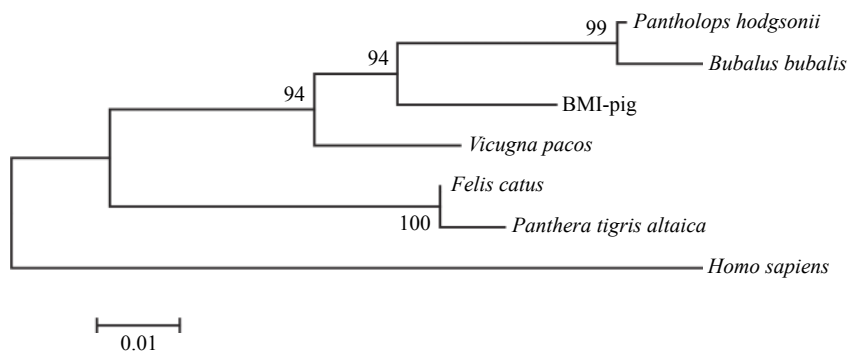


图6 *KITLG* 氨基酸进化树

Fig. 6 The amino acids sequences phylogenetic tree of *KITLG*

以 *18S* 为内参基因, 多组织半定量转录表达谱分析表明 *KITLG* 基因 mRNA 在多种组织中广泛表达, 在附睾、心、脾、肺、肾、胃中相对高表达, 在其他组织中相对低表达, 该基因在各个组织间的表达差异很可能与其在不同组织间发挥的功能差异有关, 由此推断该基因可能在猪的附睾中发挥重要功能。附睾可吸收大部分睾丸液, 可以分泌一些重要的有机物质, 在精子生成及成熟、储存等环节起着重要的作用^[21]。

蛋白质的结构与功能之间存在必然联系^[22]。功能生物信息学分析显示 BMI *KITLG* 蛋白质二级结构中 α 螺旋和无规则卷曲螺旋含量较高, 分别为 48.18% 和 33.58%, α 螺旋是蛋白质二级结构中最常见、含量也较为丰富的结构元件, 而无规卷曲是构成酶重要活性部位和蛋白质特异功能部位的二级结构元件^[17]。*KITLG* 蛋白有 1 个干细胞因子 (SCF), 干细胞因子是参与造血的同源二聚体, 可结合并激活 SCF 受体 (SCFR), 是一种酪氨酸激酶受体^[23]。*KITLG* 蛋白存在 216 AA~238 AA 处含有 1 个跨膜螺旋, 说明它属于跨膜蛋白。跨膜蛋白是生物膜上的一种特殊蛋白, 主要负责细胞及组织内外环境的信息和物质交换, 在生物体的生命活动中具有重要作用^[24]。BMI *KITLG* 蛋白 N 端 1~25 AA 为信号肽序列, 说明该蛋白属于分泌性蛋白^[25]。化学修饰是蛋白质翻译后加工的重要内容, 蛋白质糖基化可使蛋白质打上标记, 改变多肽的构象增加蛋白质的稳定性, 蛋白质磷酸化可以大大提高酶蛋白的活性, 蛋白质酰胺化可防止羧基端被羧肽酶降解, 它们是蛋白质化学修饰的两种重要方式, 发现 *KITLG* 蛋白存在 1 个 N-糖基化位点, cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶、蛋白酶 C、酪蛋白激酶 II 3 个磷酸化位点和 1 个 N-十四酰化位点, 为今后进行深入 *KITLG* 蛋白的功能奠定了基础。

BMI 猪、羊、羊驼、牛、猫、老虎、人等 7 个物种间 *KITLG* 蛋白质序列两两相似性均在 85% 以上, 表明 *KITLG* 基因是高度保守的基因。7 个物种 *KITLG* 蛋白质序列构建的系统进化树表明: 牛和羊聚为一小类, 然后再与猪聚为一类, 牛和羊均属于牛科, 猪为猪科动物, 它们均为偶蹄目哺乳纲动物, 猪、牛、羊是重要的家畜, 是人类驯化较早的家养动物; 猫和老虎聚为一类, 均属于猫科, 分类均符合系统进化的分类

标准。

综上所述, 该研究利用 RT-PCR 方法成功分离了 BMI *KITLG* 基因的全长编码序列, 多组织半定量表达确定了其在 BMI 10 种组织中的表达情况, 并进一步对其编码的蛋白质进行了功能生物信息学分析, 研究结果将为深入研究 *KITLG* 基因在猪中的功能奠定基础。

[参考文献]

- [1] 程攀. *DNMT1*、*KIT* 和 *KITLG* 基因的单核苷酸多态性与生精障碍关系的初步研究[D]. 大理: 大理学院, 2014: 39.
- [2] 张敏, 丁显平, 朱一剑, 等. *KIT* 基因单核苷酸多态性与四川地区男性不育的相关性研究[J]. 四川大学学报(自然科学版), 2011, 48(4): 961. DOI: [10.3969/j.issn.0490-6756.2011.04.043](https://doi.org/10.3969/j.issn.0490-6756.2011.04.043).
- [3] ULIVI P, ZOLI W, MEDRI L, et al. c-kit and SCF expression in normal and tumor breast tissue[J]. Breast Cancer Research and Treatment, 2004, 83(1): 33. DOI: [10.1023/B:BREA.0000010694.35023.9e](https://doi.org/10.1023/B:BREA.0000010694.35023.9e).
- [4] ZENG L, ZHENG X D, LIU L H, et al. Familial progressive hyperpigmentation and hypopigmentation without *KITLG* mutation[J]. Clinical and Experimental Dermatology, 2016, 41(8): 927. DOI: [10.1111/ced.12923](https://doi.org/10.1111/ced.12923).
- [5] ZAZO S C, SERRÃO de C L, van NIEROP J W, et al. Allelic mutations of *KITLG*, encoding KIT ligand, cause asymmetric and unilateral hearing loss and waardenburg syndrome type 2[J]. The American Journal of Human Genetics, 2015, 97(5): 647. DOI: [10.1016/j.ajhg.2015.09.011](https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.09.011).
- [6] MAHAKALI Z A, HUDSON F P, BEDELL M A. Analysis of hypomorphic *Kitl* mutants suggests different requirements for KITL in proliferation and migration of mouse primordial germ cells[J]. Biology of Reproduction, 2005, 73(4): 639. DOI: [10.1095/biolreprod.105.042846](https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.042846).
- [7] jr ROSKOSKI R. Structure and regulation of Kit protein-tyrosine kinase—the stem cell factor receptor[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 338(3): 1307. DOI: [10.1016/j.bbrc.2005.09.150](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.09.150).
- [8] 侯佳妮. 蓝狐 *KIT/KITLG* 及 *EDNRB* 基因的克隆及显性白毛色突变的相关性分析[D]. 长春: 吉林大学, 2014: 3.
- [9] BERNSTEIN A, FORRESTER L, REITH A D, et al. The murine W/c-kit and steel loci and the control of hematopoiesis[J]. Seminars in Hematology, 1991, 28(2): 138.
- [10] PANWAR D, RAWAL L, SEHGAL N, et al. Cross talk between KGF and *KITLG* proteins implicated with ovarian folliculogenesis in buffalo *Bubalus bubalis*[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0127993. DOI: [10.1371/journal.pone.0127993](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127993).
- [11] YU P, ZHANG L, LI S, et al. Screening and analysis of

- porcine endogenous retrovirus in Chinese Banna minipig inbred line[J]. Transplant Proceedings, 2004, 36(8): 2485. DOI: [10.1016/j.transproceed.2004.07.055](https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.07.055).
- [12] ZENG R, ZENG Y Z. Molecular cloning and characterization of *SLA-DR* genes in the 133-family of the Banna mini-pig inbred line[J]. Animal Genetics, 2005, 36(3): 267. DOI: [10.1111/j.1365-2052.2005.01277.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2005.01277.x).
- [13] HUO J L, WANG P, ZHAO Y, et al. Molecular cloning, mRNA expression and characterization of a novel *FAIMI* gene from Chinese Banna mini-pig inbred line (BMI)[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012, 11(8): 1080. DOI: [10.3923/javaa.2012.1080.1086](https://doi.org/10.3923/javaa.2012.1080.1086).
- [14] WANG P, HUO J L, WANG S Y, et al. Cloning, sequence characterization, and expression patterns of members of the porcine TSSK family[J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(4): 14908. DOI: [10.4238/2015.October.18.56](https://doi.org/10.4238/2015.October.18.56).
- [15] AMYERE M, VOGT T, HOO J, et al. *KITLG* mutations cause familial progressive hyper- and hypopigmentation[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2011, 131(6): 1234. DOI: [10.1038/jid.2011.29](https://doi.org/10.1038/jid.2011.29).
- [16] CUELL A, BANSAL N, COLE T, et al. Familial progressive hyper- and hypopigmentation and malignancy in two families with new mutations in *KITLG*[J]. Clinical and Experimental Dermatology, 2015, 40(8): 860. DOI: [10.1111/ced.12702](https://doi.org/10.1111/ced.12702).
- [17] FISTAROL S K, ITIN P H. Disorders of pigmentation [J]. Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2010, 8(3): 187. DOI: [10.1111/j.1610-0387.2009.07137.x](https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2009.07137.x).
- [18] AN X P, SONG Y X, BU S H, et al. Association of polymorphisms at the microRNA binding site of the caprine *KITLG* 3'-UTR with litter size[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 25691. DOI: [10.1038/srep25691](https://doi.org/10.1038/srep25691).
- [19] CHEN W, LI J Y, LIU C, et al. A functional p53 responsive polymorphism in *KITLG*, rs4590952, does not affect the risk of breast cancer[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 6371. DOI: [10.1038/srep06371](https://doi.org/10.1038/srep06371).
- [20] WEI C L, WU Q, VEGA V B, et al. A global map of p53 transcription-factor binding sites in the human genome [J]. Cell, 2006, 124(1): 207. DOI: [10.1016/j.cell.2005.10.043](https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.10.043).
- [21] 朱士恩. 家畜繁殖学[M]. 5版. 北京: 中国农业出版社, 2011: 14.
- [22] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 207.
- [23] MARCHLER-BAUER A, DERBYSHIRE M K, GONZALES N R, et al. CDD: NCBI's conserved domain database[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(Database issue): D222.
- [24] 王晗. 跨膜蛋白折叠识别方法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [25] 赵慧, 郑文玲, 马文丽. 信号肽对外源蛋白分泌效率的影响[J]. 生物学杂志, 2003, 20(5): 1.

责任编辑: 何馨成