

# 羊毛角蛋白基因家族及其启动子调控作用研究进展

胡馨予<sup>1</sup> 姚逸安<sup>1</sup> 胡情情<sup>1</sup> 俞可心<sup>1</sup> 石国庆<sup>2</sup> 万鹏程<sup>2</sup> 代蓉<sup>2</sup> 管峰<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>中国计量大学生命科学学院, 杭州 310018; <sup>2</sup>新疆农垦科学院畜牧兽医研究所, 石河子 832000)

**摘要** 羊毛是养羊业重要的畜产品和经济来源之一, 近年来羊毛蛋白组学研究取得很大进展, 羊毛组分和结构的研究为羊毛角蛋白编码基因及其表达调控研究奠定了基础。该文介绍了羊毛的基本结构组成和在羊毛生长发育过程中羊毛相关角蛋白的表达调控机制, 角蛋白基因表达具有高度的组织特异性和时空性, 这种特异性表达受到严格调控, 而启动子是基因表达调控的关键元件。文章进一步对当前羊毛角蛋白基因启动子研究进展进行综述, 分析相关转录因子通过与启动子特异性位点结合来调控最终羊毛性状的机制, 围绕羊毛结构、相关基因表达特征以及特异性启动子调控机制等方面论述了羊毛生长发育及其蛋白特异性表达的研究进展, 为羊毛发育及分子育种研究提供理论参考。

**关键词** 羊毛纤维; 角蛋白基因家族; 启动子; 转录因子; 调控作用

## Research Progress of Wool Keratin Gene Family and Its Promoter Regulation Role

HU Xinyu<sup>1</sup>, YAO Yian<sup>1</sup>, HU Qingqing<sup>1</sup>, YU Kexin<sup>1</sup>, SHI Guoqing<sup>2</sup>, WAN Pengcheng<sup>2</sup>, DAI Rong<sup>2</sup>, GUAN Feng<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; <sup>2</sup>Animal Husbandry and Veterinary Institute, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Science, Shihezi 832000, China)

**Abstract** Wool fiber is one of the most important animal products and income sources in sheep farming. With the development of protein isolation and identification technology, great progress has been made in the study of wool proteomics in recent years. The research on the composition and structure of wool has laid a foundation for the study of wool keratin encoding genes and their expression regulation procedures. This paper introduces the basic structure of wool and the regulation mechanism of wool related keratin proteins during the growth and development of wool. Keratin gene expression is highly tissue specific and spatiotemporal, and this specific expression rule is strictly regulated. The promoter is the key element of gene expression regulation. This paper further reviewed the researches on the promoters of wool keratin related genes and analyzed the regulation of the final wool traits through related transcription factors binding to the promoter specific sites. In this article, the current research progress of wool growth and development and the specific expression of wool keratin proteins were reviewed, including the aspects of wool structure, related gene expression characteristics, and specific promoters regulatory mechanisms, so as to provide theoretical reference for wool development and molecular breeding research.

**Keywords** wool fiber; keratin gene family; promoter; transcription factor; regulatory role

收稿日期: 2021-04-17 接受日期: 2021-05-17

国家自然科学基金(批准号: 31672394)、国家重点研发计划项目(批准号: 2017YFD0501904)、国家绒毛用羊产业技术体系(批准号: CARS-40-07)、兵团科技攻关与成果转化计划项目(批准号: 2016AC027)和兵团中青年科技创新领军人才专项(批准号: 2018CB025)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0571-86835772, E-mail: guanfengzgil@163.com

Received: April 17, 2021 Accepted: May 17, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31672394), the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2017YFD0501904), National Technical System of fine Wool Sheep Industry (Grant No.CARS-40-07), the Project of the Corps' Scientific and Technological Breakthrough and the Project Transformation Project (Grant No.2016AC027), and the XPCC's Young and Middle-Aged Science and Technology Innovation Leading Talent Project (Grant No.2018CB025)

\*Corresponding author. Tel: +86-571-86835772, E-mail: guanfengzgil@163.com

羊毛主要指绵羊毛,其作为一种天然蛋白纤维在绵羊养殖业和纺织业中具有重要地位,尤其是细毛不可替代的纺织和经济价值使得其在国际市场上供不应求。同时,细毛羊养殖代表着畜牧业一个重要的发展方向。因此,细毛羊育种成为动物育种领域重要的研究内容之一,而羊毛组分和生长发育研究是育种研究的基础。人们对羊毛发育形成及特性的研究已有近百年的历史,研究人员力图通过各种手段来揭示羊毛的发育过程及其差异和特性的关系,以便于细毛羊育种实践。在过去近半个世纪的时间里,国内外多个研究小组针对不同细度羊毛的蛋白组分、含量和蛋白结构以及相关基因表达调控和羊毛蛋白组学等方面进行了广泛研究并取得了重大进展。羊毛从外到内分为三层,依次是鳞片层、角质层和髓质层,部分细羊毛无髓质层。现已证明,羊毛纤维主要构成部分是角质层,占洁净羊毛重量的90%甚至98%以上<sup>[1-2]</sup>,角质层由角蛋白组成<sup>[3-5]</sup>。羊毛角蛋白主要有两种,一类是以 $\alpha$ -螺旋为主的角蛋白中间丝蛋白(intermediate filament proteins, IFPs),其作为羊毛骨架,占羊毛蛋白总量的58%<sup>[2]</sup>;另一种则是作为基质成分的角蛋白联合蛋白(keratin associated proteins, KAPs),两种蛋白形成交叉连接<sup>[3,6-7]</sup>,两者占羊毛总蛋白成分的85%<sup>[7]</sup>。毛发角蛋白和与之相关的蛋白一直没有统一的分类和命名,目前较为一致的命名方式为IFPs蛋白编码基因统一为字母加数字编号 $KRTn$ ,而KAPs蛋白编码基因按照基因簇和所在染色体进行命名,为 $KRTAPn$ <sup>[8]</sup>。对细度不同的羊毛在蛋白组分、显微结构以及对美利奴绵羊突

变体毛囊基因表达及组织特异性等多方面的研究表明,细羊毛与粗羊毛的一项重要差异在于羊毛KAPs家族中高甘氨酸-酪氨酸蛋白(high glycine-tyrosine proteins, HGTPs)的含量和分布存在不同,而HGTPs的时空和组织特异性表达是造成羊毛差异的重要原因<sup>[9-12]</sup>。除相关基因调控外,羊毛角蛋白和其他动物蛋白的表达模式类似,其特异性表达模式受到相应启动子的调控。因此,本文从羊毛的结构组成、表型差异的形成基础和与之相关基因的表达调控及其启动子研究方面进行综述,为羊毛组分及其基因相关功能和育种研究提供资料。

## 1 羊毛的结构及生长发育过程

羊毛是皮肤的衍生物,是表皮内陷形成毛囊并由内向外生长发育成的一个终末分化组织。毛囊具有复杂的结构,由多种不同的细胞层组成,由内向外是球状毛球,其中心是具有毛囊再生能力和决定羊毛直径的毛乳头<sup>[13]</sup>,毛球上方是毛母质以及由此不断分裂形成的毛鞘、外根鞘、内根鞘以及由角质层、皮质层和髓质层组成的毛干<sup>[14]</sup>(图1)。毛干的不断生长并逐渐角质化形成最终的羊毛,毛干的主要成分是角质层,是羊毛成分的主体,具有高度的组织结构,可分为正皮质、副皮质和间皮质,这些结构的本质是蛋白质,统称为角蛋白(Keratin, K)。研究发现,正皮质和副皮质作为角质层的重要组成成分在弯曲羊毛中分布不同,正皮质在羊毛弯曲的凸面,副皮质在凹面<sup>[15]</sup>,进一步研究显示随着羊毛直径的增大正皮质细胞比例会随之增加<sup>[16]</sup>。

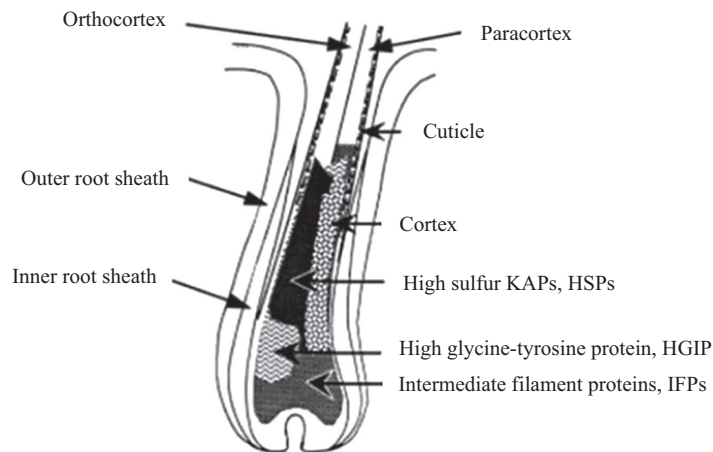


图1 羊毛毛囊横切面示意图(根据参考文献[7]修改)

Fig.1 Schematic diagram of cross section of wool follicle (modified from reference [7])

羊毛角蛋白中的IFPs形成中间丝,在纤维皮层呈轴向排列,是羊毛的基本骨架,KAPs则镶嵌在IFPs之中,通过二硫键与IFPs交联。在毛囊生长发育过程中,IFPs编码基因优先表达,之后KAPs编码基因依次表达,IFPs和KAPs两个基因家族表达的总蛋白经过角质化等复杂的过程形成羊毛<sup>[17]</sup>。IFPs编码基因目前共发现有17个,被命名为KRT31~40、KRT81~87,根据酸碱不同分为酸性I型和碱性II型,2个家系按照功能进行划分,其中I型含有5个亚类,II型含有4个亚类<sup>[17]</sup>。

在羊毛蛋白的组成中,作为骨架蛋白的IFPs含量基本稳定,而KAPs的含量和种类变化以及在毛干中的分布影响着羊毛的理化特性,根据氨基酸含量的不同可将KAPs分为高甘氨酸-酪氨酸蛋白(HGTPs, KAP6~8和KAP18~22),高硫蛋白(high sulfur KAPs, HSPs, KAP1~3、KAP10~16和KAP23)和超高硫蛋白(ultra-high sulfur KAPs, UHSPs, KAP4、KAP5、KAP9和KAP17) 3个家族<sup>[1-2,17]</sup>,三种蛋白家族均由对应基因编码,HGTPs和HSPs家族编码基因中都不含内含子<sup>[18-19]</sup>。目前绵羊大部分KAPs编码基因已经被克隆并定位于不同的染色体上。现已证明,在皮质细胞中IFPs基因最先表达,之后是HGTPs基因和HSPs基因相继表达,UHSPs则最后表达<sup>[17,20]</sup>。KAPs编码基因大部分在皮质层表达,但也有少量在角质层和髓质中表达,在羊毛弯曲的双侧正皮质层和副皮质层细胞中有规律的排列,形成凸面和凹面的对等分布<sup>[15,21]</sup>。正副皮质层各种细胞的含量也有所不同,HGTPs在正皮质层中的含量高于副皮质层,HSPs在副皮质层中的含量高于正皮质层,HGTPs主要存在于羊毛的正皮质中<sup>[22-23]</sup>。不同KAPs的mRNA或蛋白的表达量在绵羊不同部位的皮肤和同一毛囊的不同区域中存在一定差异<sup>[24]</sup>,这种严格的时空表达调控产生了特异的角蛋白含量和分布,最终产生多种表型的羊毛。

## 2 羊毛性状与基因表达调控

目前从羊毛角蛋白中分离出30多个蛋白家族,鉴定出100多种蛋白组分<sup>[25-27]</sup>。角蛋白基因表达量的变化和时空调控决定了羊毛角蛋白的组分含量和细胞定位,因此影响羊毛弯曲、粗细、长度和重量等性状。IFPs蛋白家族的编码基因对不同品种羊毛的性状影响不同,其中KRT35、KRT36、KRT38、

KRT85和KRT71影响毛纤维弯曲度、毛囊结构等性状,不同IFPs蛋白在毛囊不同部位表达,KRT35和KRT85在角质层和纤维皮质层表达并参与皮质层的分化,皮质层细胞因生长速率不同最终导致羊毛纤维卷曲,而在毛囊内根鞘特异性表达的KRT71基因表达量与羊毛弯曲程度呈正相关,KRT36和KRT38突变体研究表明其与羊毛卷曲度显著相关<sup>[28-31]</sup>。在对和田羊的研究中发现,多个KRT31基因突变体之间的羊毛长度差异显著,不同KRT81突变体的毛重不同,KRT31被列为影响羊毛长度的候选基因,KRT81被列为影响羊毛重量的候选基因<sup>[28,32]</sup>。同样,KRT83不同突变体绵羊的毛纤维直径有显著差异,KRT83被列为影响羊毛细度的候选基因,这一基因仅存在于绵羊,而在人类中不存在,因此这一基因具有物种特异性<sup>[33]</sup>。目前对IFPs编码基因的研究证明,其参与调控羊毛的发育过程,通过调控基因的表达量影响蛋白含量,而启动子是基因表达调控的关键,因此IFPs基因启动子及其调控作用研究具有重要意义。

除IFPs家族外,同样作为羊毛生长发育关键蛋白的KAPs家族已被证实影响羊毛多个性状,其中HGTPs蛋白及其家族编码基因是影响羊毛表型和理化特性的重要组分和基因。KAPs在不同绵羊品种的羊毛中占比不同,羊毛的特性也不同。研究发现,不同品种绵羊羊毛的粗细和弯曲程度不同,其羊毛中HGTPs含量也不同,林肯羊羊毛HGTPs的含量小于3%,而美利奴羊中的含量为4%~12%,HGTPs含量还受到饮食、生理和遗传因素的影响<sup>[34]</sup>。HGTPs家族主要包括KAP6、KAP7和KAP8,已发现KAPs亚家族基因成簇存在于染色体上,3个基因家族连锁在一起且都位于1号染色体上<sup>[35]</sup>。HGTPs家族是羊毛角蛋白中分子量最小的蛋白质,分为I型和II型,I型包括KAP7和KAP8,II型为KAP6.n基因家族<sup>[35]</sup>。KRTAP6是多基因家族,目前共发现5个家族成员<sup>[36]</sup>,KRTAP7为单基因家族成员,KRTAP8家族包含KRTAP8.1和KTAP8.2 2个成员<sup>[37]</sup>。KRTAP6.1、KRTAP6.3、KRTAP7.1和KRTAP8.2基因编码序列的多样性都与羊毛的特性有关<sup>[38]</sup>。研究证明,KRTAP6、KRTAP7和KRTAP8基因的表达调控均与羊毛的经济性状相关,尤其是羊毛的细度。王晶晶等<sup>[39]</sup>研究发现,HGTPs基因在萨福克羊和中国美利奴羊中存在显著差异,KRTAP6、KRTAP7和KRTAP8在萨福克羊皮肤组织中表达水平高于中国美利奴羊,其中KRTAP7

的表达水平最高。KRTAP6家族的表达还与羊毛的其他性状和产量直接相关,其在毛囊组织中具有高度的组织特异性和不对称性表达模式,但不对称性表达仅存在于毛囊细胞中<sup>[40-41]</sup>。ADELSON等<sup>[42]</sup>证明,典型的非对称纤维特异性KRTAP6.1基因表达模式仅发生在正皮层一侧,说明KRTAP6基因在羊毛的形成过程中对弯曲的生成起到重要的作用<sup>[43]</sup>。目前已有研究证明,KRTAP6基因家族编码区SNP突变和片段缺失会影响蛋白的结构或其与IFPs的相互作用,从而影响羊毛纤维直径相关的性状。但绵羊KRTAP6.1基因突变的研究表明,基因非编码区突变也会影响羊毛性状<sup>[44]</sup>,证明基因的上下游区域均可能调控基因的表达。同时还证明,KRTAP7和KRTAP8基因家族序列变异可能产生不同性状的羊毛<sup>[45]</sup>,但也有研究表明绵羊KRTAP7更重要的功能是调控羊毛的长度<sup>[46]</sup>。KAP8家族中KAP8.1蛋白呈弱碱性,而KAP8.2蛋白pH为6.3,呈弱酸性<sup>[47-48]</sup>,但尚不清楚这种差异对于羊毛性状的影响。体外研究表明,KAP8.1蛋白是HGTPs和IFPs相互作用的衔接蛋白分子,KAP8.1蛋白能特异性结合IFPs的中间丝蛋白K85的头部区域<sup>[49]</sup>,卷曲的羊毛通过这些中间纤维相互交联在正皮质层内呈螺旋状,这种结构可能是影响羊毛性状的原因之一<sup>[20,50]</sup>。山羊KRTAP8.1的基因多态性与毛纤维的重量、长度以及细度有关,可作为羊绒产量和细度辅助育种的分子标记<sup>[51-52]</sup>,也是绵羊细毛性状育种的重要参考。

通过比较分析不同表型的羊毛差异证明,IFPs编码基因和KAPs中的HGTPs蛋白家族与羊毛生长发育密切相关,基因表达具有严格的时空顺序,但这种调控机制以及对细度、弯曲和长度性状的具体影响仍然知之甚少,需要进一步从DNA水平和转录水平对其在毛囊中的具体表达定位和调控机制进行研究。基因的表达调控中启动子是重要的调控途径之一,决定了转录的起始和速率。HGTPs蛋白家族因其对羊毛性状的影响和严格的时空表达而备受研究者们关注,研究人员对羊毛角蛋白基因的启动子进行了多方面的研究,启动子相关研究成为阐明羊毛生长发育机制及特性差异的一个重要方向。

### 3 羊毛角蛋白基因启动子的调控作用

现代生物发育过程和基因组关联性的研究表明,生物体的表型受到严格的基因控制,同时还受到

外界环境和基因突变的影响,不同或同一物种间以及个体的差异不仅仅体现在基因水平,多因素作用的基因表达调控也是表型差异的重要因素<sup>[53]</sup>。真核细胞的表达受到外源和内源性因素的共同作用,而DNA是所有信号传导的起始,基因的表达受到多水平的调控,包括翻译、转录和加工等过程,还受到众多顺式作用元件(cis-acting elements)和反式作用因子(trans-acting factors)相互作用的影响<sup>[54]</sup>。启动子是基因表达过程中最为重要的顺式作用元件,属于重要的上游调控序列,是基因表达的“开关”,许多基因顺式作用元件通过这些基因启动子的特异位点来影响基因的表达<sup>[55]</sup>,最终影响生物的不同表型性状。

#### 3.1 羊毛IFPs基因启动子研究概况

毛发生长初期角蛋白中间丝蛋白IFPs在毛囊皮层中表达,并且IFPs基因按照一定次序表达,而作为基质的KAPs家族基因在此之后表达<sup>[17]</sup>。羊毛生长具有周期性和精准的时空特性,表达调控过程中还有大量的顺式作用元件和反式作用因子共同参与,以及一些特异性因子<sup>[53]</sup>。IFPs在不同品质羊毛中的含量相对稳定,不同羊毛蛋白组分的差异中难以分辨IFPs的差异<sup>[26]</sup>,因此基于IFPs蛋白差异和基因表达关系的研究较少。

现知IFPs家族I型编码基因中仅KRT31存在羊毛长度相关候选基因的文献报道和研究,该基因启动子序列DNA突变产生三种基因型,其中一种突变体的羊毛性状与其他两种显著不同,该突变体油脂绒重(greasy fleece weight, GFW)、净绒重(clean fleece weight, CFW)和平均纤维长度(mean staple length, MSL)均显著增加<sup>[32]</sup>,这一发现证明启动子调控羊毛基因KRT31表达并能影响最终的性状。绵羊KRT83(原K2.10基因)属于IFPs家族II型角蛋白编码基因,也是最先表达且影响羊毛生长发育的重要基因,绵羊KRT83启动子-350~+150序列具有高度的组织特异性表达调控模式<sup>[56]</sup>。KRT83高水平表达的转基因绵羊羊毛纤维在微观和宏观结构均发生显著改变,主要表现在毛纤维光泽和柔韧性方面都有所提升<sup>[57]</sup>。对不同年龄滩羊的绒毛表型和皮肤组织中KRT83的mRNA表达量进行关联分析,发现羔羊时期基因表达显著高于成年绵羊,这一过程主要通过抑制因子腺苷酸环酶关联蛋白1(cyclase associated actin cytoskeleton regulatory protein 1, CAP1)与启动

子结合来进行基因的表达调控<sup>[58]</sup>。*KRT83*基因启动子还通过与淋巴增强因子-1(lymphoid enhancer factor-1, LEF-1)和特异蛋白1(specific protein 1, SP1)的相互作用调控其在毛囊中的表达,从而影响羊毛的最终性状<sup>[56,59]</sup>。这些研究表明,*IFPs*基因及其启动子调控功能具有种属和时间特异性,不同时期同一个体的羊毛生长速度以及同一个体相同条件下不同部位的羊毛特性也不同,这些表型可能都是受到启动子的时空和组织特异性调控的结果。已有研究表明,启动子与转录因子的结合可能是*IFPs*基因影响羊毛性状的主要调控机制,被认为是羊毛表达调控的关键<sup>[32,58]</sup>。

综上所述,启动子作为*IFPs*基因表达调控的重要元件,具有特定的组织特异性和时空表达调控能力。此外,启动子区域的基因突变也是基因表达过程中的一种重要调控方式,序列突变直接改变或影响与转录因子的结合,从而改变基因的表达,最终影响羊毛的发育和表型性状<sup>[58]</sup>。*IFPs*相关基因启动子的研究为基因调控机制与羊毛和毛囊生长发育的关系提供了参考,但部分启动子的突变机制以及突变后影响基因表达过程的机制尚需进一步研究。

### 3.2 羊毛*KAPs*基因启动子研究概况

羊毛发育过程中,*IFPs*基因优先表达生成羊毛骨架,随后*KAPs*家族基因陆续表达,生成羊毛的基质蛋白,*KAPs*的表达也受到严格的调控并呈现出更为复杂的模式。*KAPs*家族的*HGTPs*表达与羊毛的弯曲、长度和直径等性状有关<sup>[17]</sup>。*KAPs*基因的时空特异性表达与其启动子和RNA聚合酶的调控有关,*KAPs*家族基因启动子的调控作用在于其表达活性和组织特异性<sup>[60]</sup>。

*HSPs*是羊毛纤维的重要组成蛋白之一,其在毛发纤维角质化过程中以严格的时空表达模式被激活。*KAP1.3*是*HSPs*家族的一员,其编码基因*KRTAP1.3*的启动子具有种属特异性或时间特异性,*KRTAP1.3*仅在绵羊成纤维细胞中表达,而在小鼠细胞中不表达<sup>[60]</sup>。*KRTAP1.3*启动子还具有在毛囊组织中驱动外源基因表达的能力,为在羊毛中特异表达外源基因提供了可供选用的启动子<sup>[61]</sup>。*KRTAP3.3*是*HSPs*家族*KRTAP3*基因家族成员之一,在羊毛纤维皮质层表达,*KRTAP11.1*则是*KRTAP11*家族的唯一成员,在羊毛纤维皮质层对称表达,2个基因都具有在毛囊组织中高度表达的组织特异性,转基因

小鼠研究表明,*KRTAP3.3*和*KRTAP11.1*基因的启动子序列均具有转录活性,且后者活性更高,推测这两个启动子均通过调控对应编码基因在毛发角质细胞中的组织特异性表达影响羊毛纤维的结构<sup>[62]</sup>。*KRTAP13.1*也是在毛囊皮质层和角质层表达的*HSPs*家族之一,基因编码区上游6 700 bp的区域具有启动子活性,可以调控该基因的组织 and 时空表达<sup>[63]</sup>。*HSPs*家族基因表达研究表明,该基因家族具有高效的启动子活性并可以驱动外源基因的表达,是未来转基因动物或基因特异性表达研究的领域之一。

*UHSPs*同样为*KAPs*家族中的一类重要蛋白组分,该家族目前被分离鉴定出四类蛋白,在绵羊中拥有40个亚家族<sup>[17]</sup>。目前对于绵羊*UHSPs*的功能和基因表达研究较少,对这些基因启动子的研究也鲜有报道。目前的研究证明了鼠类毛发特异性的*UHSPs*基因通用启动子具有驱动外源基因表达的活性<sup>[28]</sup>,且具有毛囊组织特异性表达的特点<sup>[64]</sup>。

*KAPs*家族中*HGTPs*家族是从不同性状羊毛中分离出的主要差异蛋白<sup>[26]</sup>,因此备受关注。鉴于*HGTPs*在不同羊毛中的含量差异以及对性状的影响,研究人员把差异机制的研究集中于基因启动子,*KRTAP6*、*KRTAP7*和*KRTAP8*自然成为研究的重要候选基因。*KRTAP6*也是一个基因亚家族,绵羊*KRTAP6.1*仅限于在毛囊皮质细胞中表达,且这种特异性表达起始于毛囊分化的后期<sup>[65]</sup>。后来,国内外有较多研究证明,不同品种绵羊*KRTAP6.1*基因启动子具有在皮肤成纤维细胞中表达的活性<sup>[43,46,60,66-67]</sup>。绵羊*KRTAP6.1*基因启动子还可以在辽宁绒山羊胎儿成纤维细胞中驱动外源角蛋白9基因(*Keratin9*)的表达,改善转基因绒山羊的羊毛品质<sup>[68]</sup>。在对*KRTAP6.1*启动子转录调控位点的分析中,发现-1523~-1区域的活性显著大于-1 042~-1区域的活性,并证明启动子活性区位于-1 523~-3 699,该区域可以结合多个协同激活转录因子和1个强的负调节因子2级POU结构域转录因子1(POU domain class 2 transcription factor 1, POU2F1)以及增强子核转录因子κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)进行基因表达的调控<sup>[69]</sup>。但同样属于*HGTPs*家族的*KRTAP7*和*KRTAP8*基因启动子的相关研究报道却很少,对于这2个启动子中可能存在的调控元件及作用更是知之甚少。王晶晶等<sup>[39]</sup>对*HGTPs*家族3个基因启动子进行活性研究,发现*KRTAP6.1*、*KRTAP7*和*KRTAP8*启

动子在绵羊皮肤成纤维细胞中表达活性较高。有相关研究证明, *KRTAP7*和*KRTAP8*基因同*KRTAP6*基因家族基因编码区存在多态性位点, 并且这些多态性位点影响羊毛的理化特性<sup>[7]</sup>。总而言之, 启动子始终是调控基因表达的重要序列, 因此对启动子的研究是了解羊毛基因表达和相关特性的重要途径和手段。据推测, *HGT*Ps启动子序列可作为靶向外源基因表达的操纵因子来进行特定毛发/羊毛性状基因的表达调控, 对启动子的研究可提升羊毛相关基因的表达水平, 促进羊毛品质的提升, 有助于选育出优质细毛羊, 最终提高羊毛价值和养羊业效益。

#### 4 羊毛角蛋白基因的转录因子

转录因子是指能够特异性结合DNA序列的一类蛋白质, 通过与DNA的特异性结合调控基因的表达, 包括多个顺式作用元件和反式作用因子。转录因子在参与调控羊毛角蛋白基因转录的起始和转录水平、转录速率和效率等方面发挥了重要作用。参与羊毛角蛋白基因表达调控的常见转录因子有激活蛋白1(activator protein 1, AP-1)、AP-2、SP1、POU结构域转录因子(POU domain transcription factor)、CCAAT增强子结合蛋白(CCAAT/enhancer binding protein, C/EBP)、糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor)以及核NF- $\kappa$ B等, 这些结合蛋白可能参与和定义了毛发角蛋白基因表达的组织特异性和定向分化。根据作用, 转录因子在参与基因调控的过程中主要分为两类, 即具有激活作用的转录因子和抑制作用的转录因子。

转录因子AP-1、AP-2、NF- $\kappa$ B、Ets家族(E-twenty six)、C/EBP和LEF-1等在羊毛表皮组织相关基因表达过程中起到激活作用。AP-1能够被许多细胞外信号激活, 角蛋白基因*KRT5*、*KRT14*和*KRT17*不同区域都受到AP-1的激活作用, *KRT6*启动子被所有AP-1转录因子强烈激活<sup>[70]</sup>。角蛋白基因*KRTAP5*、*KRTAP6*<sup>[69]</sup>和*KRTAP14*<sup>[71]</sup>在AP-1作用下转录水平显著提高, 表皮生长因子(the epidermal growth factor, EGF)通过AP-1转录因子特异性诱导KAP6角蛋白形成。凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)表明, *KRTAP6*基因的5'上游存在一个与NF- $\kappa$ B(p65)结合的增强子元件<sup>[69]</sup>, 转录因子NF- $\kappa$ B通常与其他转录因子结合, 与AP-1协同作用强烈激活*KRT6*启动子, 可影响*KRT6*在体外细胞或表皮

角质细胞中的表达水平<sup>[70]</sup>。KOMINE等<sup>[72]</sup>发现, 白介素-1(interleukin-1, IL-1)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )通过一个含有NF- $\kappa$ B和C/EBPb的转录复合体诱导KAP6的合成。NF- $\kappa$ B因子对基因转录具有不同程度的影响, 只有NF- $\kappa$ B位于5'端上游序列的特定区域内才可以起到明显作用, 否则无效<sup>[73]</sup>。Ets和AP-2家族成员对人*KRTAP5*和*KRTAP14*基因在协调角质化细胞优先表达超敏感位点IIHSsII(DNase I-hypersensitive sites II)中发挥作用, Ets和AP-2在体内协同调节表皮组织特异性表达中起着至关重要的作用<sup>[71]</sup>。许多毛发角蛋白基因启动子中存在保守的LEF-1结合基序, 其在调控毛囊形态形成中起重要作用, LEF-1在*KRT83*中作为一个增强元件, 其结合区域DNA序列的突变会导致结合位点缺失, 从而引起启动子活性降低, 同时Sp1、AP-2和核因子1(nuclear factor 1, NF1)均与*KRT83*启动子结合, 推测这些转录因子可能聚集并生成一个活性复合物, 通过复合物调控*KRT83*的表达活性<sup>[56]</sup>。

同源盒C13(homeobox C13, Hoxc13)、Tst-1/Oct6(POU结构域家族)和CAP1等对角蛋白基因表达具有抑制作用, CAP1具有显著抑制*KRT83*表达的作用<sup>[58]</sup>。在小鼠实验中, Hoxc13敲除或敲入影响毛囊的形成和毛发的生长发育, Hoxc13引起*KRTAP16*表达下调, 表明*KRTAP16*受到Hoxc13的直接调控<sup>[74-75]</sup>。POU结构域家族的Tst-1/Oct6因子与毛囊中表达的*KRT5*和*KRT14*基因启动子结合, 抑制并导致这2个基因沉默, Tst-1与Skn-1a因子相互协同对*KRT14*的抑制作用发生在上皮基底细胞<sup>[76]</sup>。同样作为POU家族成员的POU2F1则是一个活性很强的负调控因子, 在*KRTAP6*中起到强负调控作用<sup>[69]</sup>。这些抑制因子对羊毛角蛋白基因的调控最终影响羊毛弯曲和细度等性状<sup>[58]</sup>。

转录因子是基因表达调控的重要元件, 羊毛角蛋白的表达具有高度的组织特异性和时空特异性, 羊毛生长发育过程中有诸多转录因子参与, 这不仅是研究羊毛发育的靶点, 也是阐明羊毛生长发育调控机制的关键。

#### 5 小结与展望

羊毛的生长发育是一个复杂的过程, 而主成分角蛋白的表达调控是这一过程的核心。角蛋白基因复杂多样, 启动子中包含了特异性表达及转录因子

结合位点等更多信息,还决定了其组织特异性活性和表达的起始,而与转录因子的结合是调控表达量及时空顺序的重要因素,也会与毛囊和毛发生长发育相关转录因子相互作用,对羊毛生长实施精确调控。大量转录因子的参与使得羊毛角蛋白基因的表达变得更为复杂,这也是揭开羊毛基因调控机制的重要环节。随着我国对养殖业在国民经济中作用的重视程度不断提高和绵羊育种技术的进步以及羊毛在国民经济中的重要价值,细毛羊育种研究也取得了巨大进步。羊毛蛋白的分离鉴定和生长发育机制以及启动子研究成为羊毛发育研究的重要方向,也是基因工程育种的基础。随着对羊毛角蛋白相关基因家族中各基因序列以及基因启动子的系列研究,羊毛生长发育的时空和组织特异性表达以及与转录因子的作用必将会逐步清晰。

我国作为羊毛生产大国,在提高羊毛产量的同时也需一并提升羊毛的质量,对高品质尤其是细毛的追求是绵羊育种的目标,也是重要的科学问题和经济导向。现有研究表明,羊毛HGTPs家族启动子对羊毛的生长发育起到至关重要的作用,启动子的调控可能决定了羊毛的优良性状,将来对HGTPs家族启动子的研究可以对羊毛的粗细、长度以及弯曲等性状进行育种改良,为细羊毛的选育和新品种培育提供重要基础。

### 参考文献 (References)

- [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]. *Mamm Genome*, 1997, 8(12): 938-40.
- [2] PLOWMAN J E, DEB-CHOUDHURY S. Wool proteomics [M]. Cham: Springer International Publishing, 2016, 211-23.
- [3] KOEHN H, CLERENS S, DEB-CHOUDHURY S, et al. Higher sequence coverage and improved confidence in the identification of cysteine-rich proteins from the wool cuticle using combined chemical and enzymatic digestion [J]. *J Proteomics*, 2010, 73(2): 323-30.
- [4] MCKITTRICK J, CHEN P Y, BODDE S G, et al. The structure, functions, and mechanical properties of keratin [J]. *JOM*, 2012, 64(4): 449-68.
- [5] GONG H, ZHOU H, MCKENZIE G W, et al. An updated nomenclature for keratin-associated proteins (KAPs) [J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(2): 258-64.
- [6] PLOWMAN J E. Proteomic database of wool components [J]. *J Chromatogr B*, 2003, 787(1): 63-76.
- [7] PLOWMAN J E, HARLAND D P, DEB-CHOUDHURY S. Diversity of trichocyte keratins and keratin associated proteins [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1054: 21-32.
- [8] SCHWEIZER J, BOWDEN P E, COULOMBE P A, et al. New consensus nomenclature for mammalian keratins [J]. *J Cell Biol*, 2006, 174(2): 169-74.
- [9] THOMAS A, HARLAND D P, CLERENS S, et al. Interspecies comparison of morphology, ultrastructure, and proteome of mammalian keratin fibers of similar diameter [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(10): 2434-46.
- [10] HARLAND D P, CALDWELL J P, WOODS J L, et al. Arrangement of trichokeratin intermediate filaments and matrix in the cortex of Merino wool [J]. *J Struct Biol*, 2011, 173(1): 29-37.
- [11] PLOWMAN J E, PATON L N, BRYSON W G. The differential expression of proteins in the cortical cells of wool and hair fibres [J]. *Exp Dermatol*, 2010, 16(9): 707-14.
- [12] HEARLE J W. A critical review of the structural mechanics of wool and hair fibres [J]. *Int J Biol Macromol*, 2000, 27(2): 123-38.
- [13] SALAS P J, FORTEZA R, MASHUKOVA A. Multiple roles for keratin intermediate filaments in the regulation of epithelial barrier function and apico-basal polarity [J]. *Tissue Barriers*, 2016, 4(3): e1178368.
- [14] 田月珍, 黄锡霞, 柏妍, 等. 与毛囊生长发育及羊毛、羊绒品质相关基因的研究进展[J]. *中国草食动物科学(TIAN Y Z, HUANG X X, BAI Y, et al. Advances in genes associated with growth of hair follicle and quality of wool and cashmere [J]. China Herbivore Science)*, 2013, 33(3): 55-8.
- [15] DICKERSON M B, SIERRA A A, BEDFORD N M, et al. Keratin-based antimicrobial textiles, films, and nanofibers [J]. *J Mater Chem B*, 2013, 1(40): 5505-14.
- [16] MARSHALL R C, ORWIN D, GILLESPIE J M. Structure and biochemistry of mammalian hard keratin [J]. *Electron Microsc Rev*, 1991, 4(1): 47.
- [17] 金雨婷, 胡馨予, 石国庆, 等. 羊毛蛋白组学研究进展[J]. *中国细胞生物学学报(JIN Y T, HU X Y, SHI G Q, et al. Advance in the research of wool proteomics [J]. Chin J Cell Biol)*, 2020, 42(7): 1276-87.
- [18] POWELL B C, ROGERS G E. The role of keratin proteins and their genes in the growth, structure and properties of hair [J]. *EXS*, 1997, 78: 59-148.
- [19] ROGERS M A, SCHWEIZER J. Human KAP genes, only the half of it? Extensive size polymorphisms in hair keratin-associated protein genes [J]. *J Invest Dermatol*, 2005, 124(6): vii-ix.
- [20] PLOWMAN J E, PATON L N, BRYSON W G. The differential expression of proteins in the cortical cells of wool and hair fibres [J]. *Exp Dermatol*, 2006, 16(9): 707-14.
- [21] ROGERS G E. Biology of the wool follicle: an excursion into a unique tissue interaction system waiting to be re-discovered [J]. *Exp Dermatol*, 2006, 15(12): 931-49.
- [22] HUA G, ZHOU H, RACHEL F, et al. Wool keratin-associated protein genes in sheep—a review [J]. *Genes*, 2016, 7(6): 1-16.
- [23] SHU W L, OUYANG H S, ROGERS G E, et al. Characterization of the structural and molecular defects in fibres and follicles of the merino felting lustre mutant [J]. *Exp Dermatol*, 2009, 18(2): 134-42.
- [24] 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]. *Biol Chem*, 2002, 277(50): 48993-9002.
- [25] PLOWMAN J E, HARLAND D P, GANESHAN S, et al. The proteomics of wool fibre morphogenesis [J]. *J Struct Biol*, 2015, 191(3): 341-51.
- [26] PLOWMAN J E, DEB-CHOUDHURY S, BRYSON W G, et al. Protein expression in orthocortical and paracortical cells of merino wool fibers [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(6): 2174-80.
- [27] PLOWMAN J E. The proteomics of keratin proteins [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 849(1/2): 181-9.
- [28] 和东迁, 陶金忠, 陈丽尧, 等. 绵羊毛囊及其角蛋白研究进展 [J]. *中国畜牧兽医* (HE D Q, TAO J Z, CHEN L R, et al. Research progress of sheep hair follicle and keratin [J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2021, 48(1): 248-56.
- [29] YU Z D, WILDERMOTH J E, WALLACE O A M, et al. Annotation of sheep keratin intermediate filament genes and their patterns of expression [J]. *Exp Dermatol*, 2011, 20(7): 582-8.
- [30] KANG X L, LIU Y F, ZHANG J B, et al. Characteristics and expression profile of KRT71 screened by suppression subtractive hybridization cDNA library in curly fleece Chinese Tan sheep [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(7): 552-64.
- [31] 牛妹, 李淑敏, 何清, 等. 毛发弯曲度相关蛋白KRT71和 $\beta$ -catenin在绵羊毛囊的定位表达[J]. *中国兽医科学* (NIU S, LI S M, HE Q, et al. Expression and localization of KRT71 and  $\beta$ -catenin in sheep hair follicle [J]. *Vet Sci China*), 2017, 47(5): 660-3.
- [32] CHAI W Q, ZHOU H T, GONG H, et al. Nucleotide variation in the ovine KRT31 promoter region and its association with variation in wool traits in Merino-cross lambs [J]. *J Agr Sci*, 2019, 157(2): 1-7.
- [33] CHAI W Q, ZHOU H T, FORREST R H J, et al. Polymorphism of KRT83 and its association with selected wool traits in Merino-cross lambs [J]. *Small Ruminant Res*, 2017, 155: 6-11.
- [34] GILLESPIE J M. The proteins of hair and other hard  $\alpha$ -keratins [M]. US: Springer, 1990, 95-128.
- [35] LIU Y X, SHI G Q, WANG H X, et al. Polymorphisms of KAP6, KAP7, and KAP8 genes in four Chinese sheep breeds [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(2): 3438-45.
- [36] ZHOU H, GONG H, WANG J, et al. Identification of four new gene members of the KAP6 gene family in sheep [J]. *Sci*, 2016, 6(1): 931-49.
- [37] GONG H, ZHOU H, DYER J M, et al. The sheep KAP8-2 gene, a new KAP8 family member that is absent in humans [J]. *Springer Plus*, 2014, 3(1): 1-5.
- [38] FARMAN U, JAMAL S M, EKEGBU U J, et al. Polymorphism in the ovine keratin-associated protein gene KRTAP7-1 and its association with wool characteristics [J]. *J Anim Sci*, 2020, 98(1): 1-7.
- [39] 王晶晶, 杨涵羽璐, 代蓉, 等. HGTP基因与羊毛细度的相关性分析及其启动子活性研究[J]. *中国畜牧兽医* (WANG J J, YANG H Y L, DAI R, et al. Study on the correlation between HGTP gene and wool fineness and the activity of HGTP gene promoter [J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2019, 46(10): 2988-97.
- [40] 张俊霞, 王利, 尹俊, 等. KAP6基因家族成员在胚胎期山羊皮肤中的表达[J]. *畜牧与饲料科学* (ZHANG J X, WANG L, YIN J, et al. Expression of KAP6 gene family on the skin of fetal goat [J]. *Anim Husb Feed Sci*), 2009, 30(3): 20-1.
- [41] 操银红. 角蛋白及其角蛋白关联蛋白(KAP)的研究介绍[J]. *当代畜禽养殖业* (CAO Y H. The study of keratin and its keratin associated protein (KAP) is introduced [J]. *China Academic Journal Electronic Publishing House*), 2015, 5(10): 9.
- [42] ADELSON D L, CAM G R, DESILVA U. Gene expression in sheep skin and wool (hair) [J]. *Genomics*, 2004, 83(1): 95-105.
- [43] YANG H, YANG Y L, CONG-XIANG X U, et al. Expression of KAP6.1 gene and its correlation with wool traits in sheep [J]. *Anim Husb Feed Sci*, 2012, 4(3): 102-5.
- [44] SALLAM A M, GAD-ALLAH A A, AL-BITAR E M. Association analysis of the ovine KAP6-1 gene and wool traits in Barki sheep [J]. *Anim Biotechnol*, 2020, doi: 10.1080/10495398.2020.1749064.
- [45] DAVERIO M S, ANELLO M, ALCOLEA ERSINGER V, et al. Identification of llama KRTAP7-1 and KRTAP8-1 fiber genes and polymorphism screening [J]. *Small Rumin Res*, 2019, 175: 149-54.
- [46] GONG H, ZHOU H, PLOWMAN J E, et al. Search for variation in the ovine KAP7-1 and KAP8-1 genes using polymerase chain reaction-single-stranded conformational polymorphism screening [J]. *DNA Cell Biol*, 2012, 31(3): 367-70.
- [47] 雷小萍, 赵宗胜, 曹少奇, 等. I型IF、KAP1.3和KAP8.1基因多态性及合并基因型与中国美利奴羊羊毛性状的关联分析[J]. *畜牧与兽医* (LEI X P, ZHAO Z S, CAO S Q, et al. Effects of polymorphisms of single and combined genotypes of IF, KAP1.3 and KAP8.1 genes on wool traits in Chinese Merino sheep [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2016, 48(3): 68-73.
- [48] FRASER R, PARRY D. Trichocyte Keratin-associated proteins (KAPs) [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1054: 71-86.
- [49] MATSUNAGA R, ABE R, ISHII D, et al. Bidirectional binding property of high glycine-tyrosine keratin-associated protein contributes to the mechanical strength and shape of hair [J]. *J Struct Biol*, 2013, 183(3): 484-94.
- [50] NAGASE S, TSUCHIYA M. Characterization of curved hair of Japanese women with reference to internal structures and amino acid composition [J]. *J Cosmet Sci*, 2008, 59(4): 317-32.
- [51] LIU H, YUE C, ZHANG W, et al. Association of the KAP 8.1 gene polymorphisms with fibre traits in inner mongolian cashmere goats [J]. *Asian Austral J Anim*, 2011, 24(10): 1341-7.
- [52] ZHAO M, CHEN H, WANG X, et al. A PCR-SSCP and DNA sequencing detecting two silent SNPs at KAP8.1 gene in the cashmere goat [J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(6): 1387-91.
- [53] 王婧, 李冰, 刘翠翠, 等. 启动子结构和功能研究进展[J]. *生物技术通报* (WANG J, LI B, LIU C C, et al. Advances of the studies on structure and function of promoter [J]. *Biotechnology Bulletin*), 2014, (8): 40-5.
- [54] 胡慧艳, 贾青, 侯胜奎, 等. 猪DKK1基因启动子区的克隆及其活性分析[J]. *畜牧兽医学报* (HU H Y, JIA Q, HOU S K, et al. Cloning and activity analysis of the promoter region of swine DKK1 gene [J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*), 2017, 48(6): 1150-7.
- [55] 李杰, 王海禄, 郅永伟, 等. 雪兔Corin基因启动子序列的克隆及与家兔的比较分析[J]. *中国养兔* (LI J, WANG H L, ZHI Y W, et al. Cloning the promoter of mountain hara corin gene and comparing it with rabbit [J]. *Chinese Journal of Rabbit Farming*),



- 2017, (5): 7-9,23.
- [56] DUNN S M, KEOUGH R A, ROGERS G E, et al. Regulation of a hair follicle keratin intermediate filament gene promoter [J]. *J Cell Sci*, 1998, 111(23): 3487-96.
- [57] BAWDEN C S, POWELL B C, WALKER S K, et al. Expression of a wool intermediate filament keratin transgene in Sheep Fibre alters structure [J]. *Transgenic Res*, 1998, 7(4): 273-87.
- [58] LIU Y F, KANG X L, YANG W J, et al. Differential expression of KRT83 regulated by the transcript factor CAP1 in Chinese Tan sheep [J]. *Gene*, 2017, 614: 15-20.
- [59] KEOUGH R, POWELL B, ROGERS G. Targeted expression of SV40 T antigen in the hair follicle of transgenic mice produces an aberrant hair phenotype [J]. *J Cell Sci*, 1995, 108(3): 957-66.
- [60] 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*(WANG C S, AN T Z, BAI X J, et al. Molecular cloning and activity analysis in sheep fibroblast of the keratin associated protein promoter of the sheep [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*), 2008, 28(2): 137-40.
- [61] 朱汇, 张红琳, 代蓉, 等. 绵羊高硫角蛋白KAP1.3基因启动子活性分析[J]. *生物技术通报*(ZHU H, ZHANG H L, DAI R, et al. Analysis on activity of sheep KAP1.3 promoter [J]. *Biotechnology Bulletin*), 2012, (9): 74-9.
- [62] ZHAO Z, LIU G, LI X, et al. Characterization of the promoter regions of two sheep keratin-associated protein genes for hair cortex-specific expression [J]. *PLoS One*, 2017, 11(4): 1-17.
- [63] 陈若男. 绵羊毛囊特异表达基因KRTAP13.1, KRTAP3.3上游调控序列的克隆及鉴定[D]. 湖北: 华中农业大学(CHEN R N. Identification of upstream regulatory regions of two wool follicle-specific genes in sheep: KRTAP13.1 and KRTAP3.3 [D]. Hubei: Huazhong Agricultural University), 2013.
- [64] 李昊, 王春生, 宁方勇, 等. 小鼠超高硫角蛋白基因启动子的克隆及其表达活性分析[J]. *中国实验动物学报*(LI H, WANG C S, NING F Y, et al. Cloning and activity of mouse ultra-high sulfur keratin gene promoter [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*), 2010, 18(6): 471-5.
- [65] FRATINI A, POWELL B C, ROGERS G E. Sequence, expression, and evolutionary conservation of a gene encoding a glycine/tyrosine-rich keratin-associated protein of hair [J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(6): 4511-8.
- [66] 郭旭东, 毛舒燕, 宝明涛, 等. 绵羊毛蛋白关联蛋白KAP6-1基因5'端调控区的分子克隆及测序结果比较[J]. *内蒙古大学学报*(GUO X D, MAO S Y, BAO M T, et al. Molecular cloning of 5' flanking region of ovine keratin associated protein6-1 gene and comparison of the sequences [J]. *Journal of Inner Mongolia University*), 2007, 38(1): 58-63.
- [67] 孟凡华, 王海涛, 房君, 等. 绵羊毛蛋白Kap6.1启动子的克隆及活性检测[J]. *畜牧与兽医*(MENG F H, WANG H T, FANG J, et al. Cloning and activity detection of sheep keratin KAP6.1 promoter [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2012, 44(12): 35-8.
- [68] 于永生, 王晓阳, 朴庆林, 等. 绵羊毛角蛋白II型中间丝9基因的扩增及表达[J]. *中国畜牧兽医*(YU Y S, WANG X Y, PIAO Q L, et al. Amplification and expression of sheep keratin type II intermediate filament 9 [J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2011, 38(6): 64-7.
- [69] YANG Z, CUI K, ZHANG Y, et al. Transcriptional regulation analysis and the potential transcription regulator site in the extended KAP6.1 promoter in sheep [J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(9): 6089-96.
- [70] MA S, RAO L, FREEDBERG I M, et al. Transcriptional control of K5, K6, K14, and K17 keratin genes by AP-1 and NF-kappaB family members [J]. *Gene Expr*, 1997, 6(6): 361-70.
- [71] SINHA S, DEGENSTEIN L, COPENHAVER C, et al. Defining the regulatory factors required for epidermal gene expression [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(7): 2543-55.
- [72] KOMINE M, RAO L S, KANEKO T, et al. Inflammatory versus proliferative processes in epidermis. Tumor necrosis factor alpha induces K6b keratin synthesis through a transcriptional complex containing NFkappa B and C/EBPbeta [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(41): 32077-88.
- [73] GILON M, SHER N, COHEN S, et al. Transcriptional activation of a subset of hair keratin genes by the NF-kappaB effector p65/RelA [J]. *Differentiation*, 2008, 76(5): 518-30.
- [74] WU J H, ZHANG W G, LI J Q, et al. Hoxc13 expression pattern in cashmere goat skin during hair follicle development [J]. *Agr Sci China*, 2009, 8(4): 491-6.
- [75] POTTER C S, PRUETT N D, KERN M J, et al. The nude mutant gene Foxn1 is a HOXC13 regulatory target during hair follicle and nail differentiation [J]. *J Invest Dermatol*, 2011, 131(4): 828-37.
- [76] SUGIHARA T M, KUDRYAVTSEVA E I, KUMAR V, et al. The POU domain factor Skin-1a represses the keratin 14 promoter independent of DNA binding. A possible role for interaction between Skn-1a and CREB-binding protein/p300 [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(35): 33036-44.