

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00731

绵羊皮肤源 EST-SSR 标记的功能注释及染色体电子定位

王遵宝, 赵宗胜, 余鹏, 吴洪宾, 班谦, 梁耀伟, 郑炜

石河子大学动物科技学院, 石河子 832003

摘要: 为了深入研究绵羊皮肤源 EST-SSR 分子标记的潜在基因功能, 文章采用比较基因组学和生物信息学方法对本实验室前期开发的 9 个绵羊皮肤源 EST-SSR 多态位点原始 EST 进行了功能注释和电子定位。研究表明, 6 个位点的原始 EST 与已知基因高度同源, 其中 3 个基因可能对毛性状具有重要调控作用。通过与牛全基因组 cDNA 文库的比对, 将 8 个位点初步定位于牛染色体上, 并基于牛、绵羊已定位的共用标记计算了染色体间相似系数, 分析构建了牛羊染色体 NJ 聚类图, 以此为参考最终将绵羊皮肤源 EST-SSR 标记电子定位于绵羊染色体上。研究结果不仅可为后期标记的连锁定位及毛性状关键基因的电子克隆提供参考, 同时有助于动物染色体的进化研究。

关键词: 绵羊; 牛; EST-SSR; 电子定位; 染色体

The gene ontology and electro localization of ovine skin derived EST-SSR markers

WANG Zun-Bao, ZHAO Zong-Sheng, YU Peng, WU Hong-Bin, BAN Qian,
LIANG Yao-Wei, ZHENG Wei

College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China

Abstract: In order to study the potential gene function of ovine EST-SSR markers, nine original EST of Ovine Skin Derived polymorphic EST-SSR loci, which were developed in an early study by our lab, were ontology annotated and Electro localized. The results revealed that the original ESTs of the six loci had high homology with known genes and three of them probably played an important role in wool traits. Compared with its cDNA library, 8 loci were located on chromosomes of cattle. The homology of chromosomes between cattle and sheep was estimated based on the similarity coefficients calculated by positioning markers. Additionally, NJ clustering tree was established to serve for electro localization of ovine EST-SSR markers. Finally, 8 EST-SSR markers were successfully positioned on ovine chromosomes. The results from this study not only provide references for further studies on genetic mapping, in silico cloning of key genes for wool traits, but also are helpful to the researches of chromosome evolution in animal.

Keywords: sheep; cow; EST-SSR; electro localization; chromosome

收稿日期: 2010-12-23; 修回日期: 2011-04-18

基金项目: 科技部国际科技合作项目(编号: DF2007DFB30420)和石河子大学研究生创新基金项目(编号: YJXC2010-Y01)资助

作者简介: 王遵宝, 硕士研究生, 专业方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: wangzunbao@163.com

通讯作者: 赵宗胜, 博士, 副教授, 研究方向: 动物分子育种。E-mail: zhaozongsh@shzu.edu.cn

网络出版时间: 2011-5-30 11:34:02

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110530.1134.004.html>

人类全基因组序列的测序成功是基因组研究的重要转折点,其极大地带动了测序技术的发展。随后大量物种全基因组测序相继完成,极大地充实了国际公用生物信息学数据库。利用生物信息学技术,提取、分析物种序列信息,研究、预测基因结构、功能,并发掘潜在的遗传信息成为当前研究热点。表达序列标签(Expressed sequence tag, EST)作为生物信息学数据库的重要组成部分,正被广泛应用于基因的筛选鉴定与电子克隆、遗传图谱的绘制等方面,其中结合微卫星标记技术发展起来的表达序列标签微卫星标记技术(EST-SSR)发展最为迅速。

EST-SSR 标记不仅具有微卫星标记的共显性和高度重复性,而且由于其操作过程简单、检测,实验成本低等特点,已被证实多种生物上开发成功,并广泛应用于动植物遗传多样性评估、品种鉴定、连锁图谱绘制等方面研究^[1-3]。尹俊等^[4]从绒山羊皮肤 ESTs 的重复序列分析,拷贝数超过 10 的几乎都是角蛋白,而角蛋白中的亮氨酸拉链结构可能是 SSR 最丰富区域。Thiel 等^[5]研究指出,源于基因功能区域的 EST-SSR 位点多态性能更好解释表型差异,为性状提供绝对标记。本研究前期设计开发了 9 对多态性丰富的绵羊皮肤 EST-SSR 标记用以分析探讨羊毛性状差异的遗传基础^[6]。为了进一步诠释 EST-SSR 标记多态性对性状的真实遗传效应,从而有目标地选择现有标记共同定位绵羊毛性状 QTL,有必要对其进行功能注释和染色体定位。

绵羊属牛科动物,共有 54 条染色体,比牛少 6 条, Maddox 分析认为其差异可能是染色体重组导致的^[7]。研究表明,牛、绵羊基因间具有很高的同源性,许多绵羊基因都是参照已报道的牛基因序列克隆获得^[8]。澳大利亚、美国等科研团队先后报道获得了

与绵羊同科的反刍动物牛的全基因组序列,并已提交至美国国立生物技术信息中心(NCBI)。本研究首先通过 BLAST 比对把目的 EST 定位于牛染色体上,借助牛羊共有标记的染色体源性分析结果,最终将 EST-SSR 标记转化定位于绵羊染色体上,这不仅为 EST-SSR 标记的染色体物理定位提供指导和参考,而且有助于绵羊毛性状 QTL 的发掘及探讨牛与绵羊间染色体的进化关系。

1 材料和方法

1.1 基因标记获得

9 个绵羊皮肤多态性 EST-SSR 标记为本实验室前期通过对 NCBI 上绵羊皮肤源 EST 中微卫星序列检索后,根据侧翼序列,利用 primer5.0 设计并合成引物,在群体中进行 PCR 上样检测,筛选获得(具体信息见表 1)^[6]。

在 NCBI 中下载已报道的绵羊分子标记 UNISTS,截止于 2010 年 2 月 1 日,共获得已定位标记 1 210 个,包括 RFLP、SSCP、微卫星标记等类型,选择其中 803 个与牛共有标记进行研究,其中包括 14 个在牛或羊多条染色体上同时存在的位点。

1.2 方法

1.2.1 EST-SSR 标记的功能注释

登陆 NCBI 网站,利用碱基局部比对搜索工具 (BLAST)(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)对 9 个多态位点的原始 EST 进行核酸 BLAST 分析,选择其中序列覆盖度(Query coverage)大于 30%、期望值小于 10^{-6} 的结果认为是可信的 EST 序列同源性比对结果,参照其基因功能为 EST 做出注释。

表 1 绵羊皮肤源 EST-SSR 标记多态位点引物信息

位点	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')	核心序列	EST 长度(bp)
33176797	TTCCAGAGCAGCAGACAA	TAACCATTGGACCACCAG	GT	537
33176853	CCTTCTGTTATTACTTGCTG	TAGTCATGGTGAGGGGAG	TG	503
33176884	GCTCACCACAAGAAGAGGGAT	TGAGACGGGAACGCAGGT	GCAC	553
33176918	CTGGGTGATTCTGGAGGT	CAATAGGTTTCTGTCGGTTA	TG	378
33176955	TAGGTGGTAGGAAGAAGG	ATGGCACATAACAACCTCA	GT	577
33176988	CGACCAAAACCACAAGCA	ATACGAACCTGACAGCACC	CA	243
33177052	GTATTCCAGGGGACTTCA	TAGCAGGGACACTTCTTTT	TG	388
33179441	TGTAGGGTGGGATATGAGGT	AAGCCATGTGAGGAGCAG	GT	380
33181070	ATTGCTGGTTCTGTGGGT	TTGGGAGTCTGGTTGGTAT	TG	231

1.2.2 EST-SSR 标记的染色体电子定位

以牛的全基因组 cDNA 文库为参考, 将 9 个 EST 序列逐一进行 BLAST 比对, 选择其中覆盖度(Query coverage)大于 30%、期望值小于 10^{-6} 的结果进行比较分析, 将标记定位于牛的基因组图谱中, 完成标记的染色体电子定位。

1.2.3 染色体同源性分析及标记的转换^[9]

利用 NTSYS 2.0 及 EXCEL 2003 软件计算牛、绵羊染色体间的相似系数及距离, 然后采用 MEGA4 中的邻结法(Neighbor Joining Method, NJ)进行染色体聚类, 并构建树图。通过以下公式计算染色体定位似然率:

染色体定位似然率=标记同源性比对的相似率×染色体间相似系数。

2 结果与分析

2.1 EST-SSR 标记的功能注释

序列同源性比对结果显示, 6 个 EST 可以找到与之具有高度同源性的已知基因, 33176918 位点的同源序列位于 3 个基因整合拼接区域内。比对获得的基因中, 牛基因 4 个, 人类基因 2 个, 山羊和黑猩猩基因各 1 个, 其余 3 个属于未知基因(表 2)。其中 *SUFU* 基因属于信号通路调节中的抑制因子, 在细胞增殖过程中发挥作用^[10]; *NUMB* 基因在神经发生过程中发挥作用, 决定细胞的发展命运^[11]; 牛 *PBXIP1* 基因属于电子克隆基因, 该基因在人上的研究表明其对前 B 细胞白血病转录因子具有调控作用, 并对雌激素受体- α 的信号传导有影响^[12]。*ABCG2* 基因属于转运蛋白同时具有细胞防御功能, 其对乳腺有激活作用, 从而影响乳脂与乳蛋白含量^[13~15]。*PKD2* 基因是多囊蛋白家族的成员, 属于信号转导

蛋白^[16]。这几个基因对应的 EST 序列可能在绵羊皮肤中起到免疫、分泌、信号传导等作用, 未见对毛发生长有影响。检索获得的 *SPPI* 基因又称骨桥蛋白(Osteopontin, *OPN*), 是一种参与体内多项细胞活动的重要细胞因子, 近来研究发现, 其是触发疤痕形成的基因之一^[17~20]。*MENA* 基因能在成纤维细胞中诱导产生丰富的 F-肌动蛋白副产物, 从而影响细胞的运动性^[21~23]。*BMP15* 基因是骨生成蛋白家族成员之一, 其对卵母细胞、颗粒的增殖分化与滤泡的生长有刺激作用^[24~26]。

2.2 EST-SSR 标记的染色体电子定位

电子染色体定位结果显示, 除 33176988 位点外, 其他位点均在牛全基因组 cDNA 文库找到相应的克隆, 并成功定位于牛的 7 个染色体上, 其中 3、10、13 号染色体上均定位了 2 个标记。33176988 位点与牛基因组的一个未定位重叠群高度同源。这 9 个位点与牛 cDNA 文库中的对应序列相似率最低为 89%, 期望值最大为 $3E-34$, 除 33181070 位点外其他位点的覆盖度都在 60%以上, 表明序列同源性比对结果可信度高, 定位结果准确可靠。33176955 位点与牛 cDNA 文库中 3 个不同的序列拥有相似的同源性, 将其暂定于 3 个不同的染色体上(表 3)。

2.3 牛、羊共有染色体分布情况

在绵羊已报道的 1210 个 UNISTS 标记中, 有 803 个已定位的牛、羊公共标记, 约占总标记量的 66%, 表明绵羊与牛在基因组上具有很高的同源性。所选标记分布于牛羊的全部染色体, 分布频率受染色体大小影响, 形态大的染色体上标记较多, 形态小的染色体上标记较少。其中牛、羊 1 号染色体上标记最多, 分别占到 5.8%和 9.8%, Y 染色体上标记最少, 均为 0.4%(表 4)。

表 2 绵羊 EST-SSR 标记功能注释结果

位点	GenBank 登陆号	基因描述	覆盖度	期望值	相似率
33176797	EU743938	山羊 <i>BMP15</i> 基因	35%	1E-50	86%
33176884	AF108092	人类 <i>NUMB</i> 基因	64%	4E-70	81%
33176918	AJ871176	牛 <i>ABCG2</i> , <i>PKD2</i> 和 <i>SPPI</i> 基因	31%	2E-21	83%
33176955	XR_019972	黑猩猩类 <i>MENA</i> 蛋白	84%	2E-59	76%
33179441	NM_001075265	牛 <i>PBXIP1</i> 基因	88%	2E-121	90%
33181070	NG_021338	人类 <i>SUFU</i> 基因	40%	3E-18	86%

表 3 绵羊皮肤源 EST-SSR 标记在牛染色体上的电子定位结果

位点	比对克隆	定位结果	最大得分	覆盖度	期望值	相似率
33176797	NW_001493113.2	13	544	85%	3E-152	92%
33176853	NW_001495023.2	5	339	90%	1E-90	97%
33176884	NW_001492867.2	10	516	85%	6E-144	94%
33176918	NW_001494562.2	2	252	83%	1E-64	96%
33176955	NW_001494727.1	3	536	70%	5E-150	99%
33176955	NW_001493109.1	13	536	62%	5E-150	99%
33176955	NW_001493403.2	16	531	74%	2E-148	98%
33176988	NW_001503073.1	N	237	65%	2E-60	94%
33177052	NW_001492854.2	10	219	67%	1E-54	89%
33179441	NW_001494724.2	3	349	72%	1E-93	95%
33181070	NW_001494358.2	26	150	38%	3E-34	97%

表 4 绵羊、牛共有定位标记的染色体分布情况

绵羊染色体	标记数量	分布频率	牛染色体	标记数量	分布频率
1	80	9.8%	1	47	5.8%
10	17	2.1%	2	37	4.6%
11	32	3.9%	3	37	4.6%
12	21	2.6%	4	28	3.5%
13	21	2.6%	5	39	4.8%
14	25	3.1%	6	30	3.7%
15	33	4.0%	7	27	3.3%
16	19	2.3%	8	37	4.6%
17	28	3.4%	9	35	4.3%
18	22	2.7%	10	38	4.7%
19	23	2.8%	11	38	4.7%
2	72	8.8%	12	19	2.3%
20	20	2.5%	13	21	2.6%
21	14	1.7%	14	23	2.8%
22	15	1.8%	15	34	4.2%
23	32	3.9%	16	22	2.7%
24	18	2.2%	17	29	3.6%
25	10	1.2%	18	24	3.0%
26	11	1.3%	19	30	3.7%
3	79	9.7%	20	20	2.5%
4	31	3.8%	21	22	2.7%
5	28	3.4%	22	24	3.0%
6	30	3.7%	23	19	2.3%
7	39	4.8%	24	31	3.8%
8	30	3.7%	25	18	2.2%
9	29	3.6%	26	15	1.8%
X	33	4.0%	27	11	1.4%
Y	3	0.4%	28	10	1.2%
			29	14	1.7%
			X	29	3.6%
			Y	3	0.4%
总计	815	1.0		811	1.0

2.4 染色体同源性分析

染色体同源性分析显示, 绵羊、牛配对染色体间的相似系数介于 0.0000 与 1 之间, 以此为基础采用 NJ 法进行的聚类分析结果显示, 牛、绵羊染色体间可以很好的配对, 共形成了 25 个一一映射染色体配对组合(相似系数均大于 99.13%)和 3 个一对多染色体配对组合(相似系数均大于 94.27%)。绵羊 1 号染色体与牛 1 号染色体具有较高同源性(95.14%), 同时与牛 3 号染色体高度相似(94.27%); 绵羊 2 号染色体与牛 8 号染色体具有较高同源性(95.64%), 同时与牛 2 号染色体同源(94.76%); 绵羊 3 号染色体与牛 5、11 号染色体具有相似的同源性(95.02%, 94.89%)。结果见图 1 和表 5。

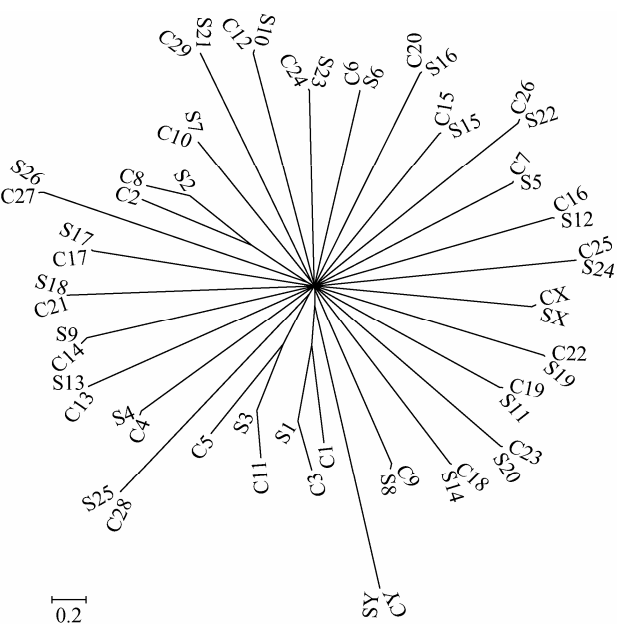


图 1 牛、羊染色体 NJ 聚类图(C 代表牛, S 代表羊)

表 5 EST-SSR 标记的染色体置换定位

位点	牛染色体	羊染色体	染色体相似率	定位似然率
33176797	13	13	99.50%	91.54%
33176853	5	3	95.02%	92.17%
33176884	10	7	100%	94%
33176918	2	2	94.77%	90.98%
33176955	3	1	94.27%	93.33%
33176955	13	13	99.50%	98.51%
33176955	16	12	99.63%	97.63%
33177052	10	7	100%	89%
33179441	3	1	94.27%	89.56%
33181070	26	22	99.50%	96.52%

根据以上结果, 可以将定位于牛染色体上的 EST-SSR 标记转定到绵羊染色体上, 通过计算定位的似然率可知, 绵羊 EST-SSR 标记定位似然率介于 89%与 98.51%之间, 表明定位结果可信度高, 其中 33176955 位点位于 13 号染色体上的概率较大(98.51%)。具体结果见表 5。

3 讨论

BLAST 比对未能发现绵羊已知基因, 主要是因为绵羊上报的基因较少, 远落后于人、牛、猪等物种, 从侧面反映了绵羊基因组学发展的滞后性。由于所选的多态标记来源于绵羊皮肤 EST,其对应的基因必定在绵羊皮肤中表达, 并参与皮肤的一系列生理功能, 如机体免疫、信号传导、分泌代谢、养分供给等。本研究中 6 个可注释 EST 的对应基因中 *SUFU*、*ABCG2* 等基因属于免疫、分泌、信号传导过程中的细胞因子^[10~16], 未见有影响毛发生长的报道。Mori 等研究证实骨桥蛋白参与了皮肤疤痕的形成^[18]。同时, 杨恬等^[19]通过原位杂交技术检测了大鼠毛发不同生长期的骨桥蛋白表达, 指出骨桥蛋白可能对毛发生长和毛发周期有调节作用。*MENA* 基因又称为 *Ena/VASP* 基因, 属于细胞骨架调节蛋白, Bear 等^[21~23]研究发现其能在成纤维细胞中诱导产生丰富的 F-肌动蛋白副产物, 从而影响细胞的运动性; *BMP15* 基因是骨生成蛋白家族成员, 该家族对细胞的增殖分化有重要的调控作用, 目前有报道指出该家族成员 *BMP2* 与维持皮肤毛囊处于休止期有关, 其可以抑制皮肤毛囊发育, 而 *BMP15* 基因本身对卵母细胞、颗粒的增殖分化与滤泡的生长有刺激作用^[24~26], 推测该基因在毛发发生过程中同样存在作用。以上

3 个基因可能在毛囊中发挥较大作用, 故推测其对应的 EST-SSR 标记多态性可能与羊毛表型差异有关, 后期拟通过实时定量技术及该位点基因型与性状的关联性分析结果予以证实。3 个 EST-SSR 位点的原始 EST 属于未知基因, 其功能有待深入研究。EST 位点的功能注释不仅有助于把握今后的研究重点与方向, 而且可为后期关键基因全长的电子克隆奠定基础。

本研究所选择的绵羊 803 个与牛共有的已定位标记覆盖了牛、羊全部染色体, 其染色体分布与染色体自身大小相关, 大染色体标记较多, 最小的 Y 染色体上标记最少。少数标记同时分布在绵羊或牛的 2 条或 3 条染色体上, 可能是由于基因的跃迁造成, 其在进化上的作用有待深入研究^[27]。染色体同源性分析结果表明, 牛、羊染色体间存在很高的同源性(配对相似系数 0.8020), 而且表现出明显的易位及重组现象, 如绵羊 1 号染色体与牛 1、3 号染色体, 绵羊 2 号染色体与牛 2、8 号, 绵羊 3 号染色体与牛 5、11 号染色体间存在着相近的相似系数, 该结果与沈祖楠、Kaftanovskaya 等基本一致^[9, 28]。这或许可以用来解释牛羊长期进化过程中引发的染色体对数差异, 即牛 1、3、2、8 与 5、11 号染色体经整合重组等过程形成了绵羊的 1、2、3 号染色体。牛、绵羊间染色体的同源性以及对数差异为染色体发育进化研究提供了很好的实验模型, 其真实的进化过程有待于进一步研究。

基因标记的染色体定位方法主要包括体细胞杂交法、克隆嵌板法、原位杂交和荧光原位杂交法、连锁分析基因定位法和放射杂交法等^[29]。但这些技术操作繁琐, 实验成本高, 无法实现快速定位。随着基因组学的发展和测序技术的不断变革, 以生物信息资源与技术为基础的电子定位法将得到迅速发展, 并成为基因定位的首选策略和参考标准之一。张小慧等^[30]利用电子定位技术成功将与鼻咽癌相关基因 *STRF7* 定位于人 6 号染色体上 D6S453-D6S311 区间及邻近区域。沈祖楠等^[9]利用比较基因组学和生物信息学方法对山羊部分皮毛颜色候选基因进行了定位, 将 *Myo5a*、*Brcal* 等 8 个基因定位于山羊的 8 条染色体上, 并正在开展相关实验进行验证。

本研究采用染色体电子定位法将绵羊皮肤源 EST-SSR 标记多态位点定位于牛染色体上, 并结合

染色体同源性分析, 对牛羊染色体进行了配比分析, 实现了皮肤源 EST-SSR 标记的绵羊染色体定位。这一结果不仅证实绵羊、牛基因组具有高度同源性, 而且可为后期标记的精细定位及绵羊毛性状 QTL 的发掘提供参考。为了更好地衡量标记通过染色体电子定位的准确性, 本研究提出了染色体定位似然率的概念, 其值越大则标记定位与该染色体上的概率越大, 定位的准确度越高。该参数可反映染色体电子定位的准确性, 同时有助于将归属不清的标记定位于最可能染色体上。

参考文献(References):

- [1] Varshney RK, Graner A, Sorrells ME. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnol*, 2005, 23(1): 48–55.
- [2] La Rota M, Kantety RV, Yu JK, Sorrells ME. Nonrandom distribution and frequencies of genomic and EST-derived microsatellite markers in rice, wheat, and barley. *BMC Genomics*, 2005, 6(1): 23.
- [3] Hu JB, Li JW, Liang FF, Liu LJ, Si SW. Genetic relationship of a cucumber germplasm collection revealed by newly developed EST-SSR markers. *J Genet*, 2010, 89(2): 28–32.
- [4] 尹俊, 李金泉, 张燕军, 李长青, 郭志成. 内蒙古成年绒山羊皮肤基因表达的研究. *畜牧兽医学报*, 2005, 36(10): 996–1000.
- [5] Thiel T, Michalek W, Varshney RK, Graner A. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet*, 2003, 106(3): 411–422.
- [6] 王遵宝, 努尔力·阿不力孜, 赵宗胜, 曾献存, 吴洪宾. 基于绵羊皮肤组织 ESTs 开发新型微卫星标记. *中国农学通报*, 2010, 26(3): 42–45.
- [7] Maddox JF. A presentation of the differences between the sheep and goat genetic maps. *Genet Sel Evol*, 2005, 37(S1): 1–10.
- [8] 宋雪梅. 小尾寒羊 5 个与繁殖和疾病抗性相关基因的克隆及比较基因组学分析[博士学位论文]. 北京: 中国农业科学院, 2000.
- [9] 沈祖楠, 李祥龙, 周荣艳, 李兰会, 郭秀丽, 赵洪波, 张晶晶, 宣凤琴, 郑会芹. 牛、绵羊和山羊染色体同源性分析及山羊部分毛色候选基因染色体电子定位. *畜牧兽医学报*, 2009, 40(9): 1308–1314.
- [10] Paces-Fessy M, Boucher D, Petit E, Paute-Briand S, Blanchet-Tournier MF. The negative regulator of Gli,

- Suppressor of fused (*Sufu*), interacts with SAP18, Galectin3 and other nuclear proteins. *Biochem J*, 2004, 378(2): 353–362.
- [11] Verdi JM, Bashirullah A, Goldhawk DE, Kubu CJ, Jamali M, Meakin SO, Lipshitz HD. Distinct human *NUMB* isoforms regulate differentiation vs. proliferation in the neuronal lineage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(18): 10472–10476.
- [12] Abramovich C, Shen WF, Pineault N, Imren S, Montpetit B, Largman C, Humphries RK. Functional cloning and characterization of a novel nonhomeodomain protein that inhibits the binding of *PBX1-HOX* complexes to DNA. *J Biol Chem*, 2000, 275(34): 26172–26177.
- [13] Braunschweig MH. Mutations in the bovine *ABCG2* and the ovine *MSTN* gene added to the few quantitative trait nucleotides identified in farm animals: a mini-review. *J Appl Genet*, 2010, 51(3): 289–297.
- [14] Buback F, Renkl AC, Schulz G, Weiss JM. Osteopontin and the skin: multiple emerging roles in cutaneous biology and pathology. *Exp Dermatol*, 2009, 18(9): 750–759.
- [15] Deichmann M, Thome M, Egner U, Hartschuh W, Kurzen H. The chemoresistance gene *ABCG2* (*MXR/BCRP1/ABCP1*) is not expressed in melanomas but in single neuroendocrine carcinomas of the skin. *J Cutan Pathol*, 2005, 32(7): 467–473.
- [16] Obermüller N, Gallagher AR, Cai Y, Gassler N, Gretz N, Somlo S, Witzgall R. The rat *Pkd2* protein assumes distinct subcellular distributions in different organs. *Am J Physiol*, 1999, 277(6): 914–925.
- [17] Liaw L, Birk DE, Ballas CB, Whitsitt JS, Davidson JM, Hogan BL. Altered wound healing in mice lacking a functional osteopontin gene (*spp1*). *J Clin Invest*, 1998, 101(7): 1468–1478.
- [18] Mori R, Shaw TJ, Martin P. Molecular mechanisms linking wound inflammation and fibrosis: knockdown of osteopontin leads to rapid repair and reduced scarring. *J Exp Med*, 2008, 205(1): 43–51.
- [19] 杨恬, 向明明. 大鼠皮肤及毛囊骨桥蛋白研究. 中国医学科学院学报, 2000, 22(3): 296–299.
- [20] Hendig D, Arndt M, Szliska C, Kleesiek K, Götting C. *SPPI* promoter polymorphisms: Identification of the first modifier gene for *Pseudoxanthoma elasticum*. *Clin Chem*, 2007, 53(5): 829–836.
- [21] Bear JE, Loureiro JJ, Libova I, Fässler R, Wehland J, Gertler FB. Negative regulation of fibroblast motility by *Ena/VASP* proteins. *Cell*, 2000, 101(7): 717–728.
- [22] Gurzu S, Jung I, Prantner I, Ember I, Pávai Z, Mezei T. The expression of cytoskeleton regulatory protein *Mena* in colorectal lesions. *Rom J Morphol Embryol*, 2008, 49(3): 345–349.
- [23] Krause M, Dent EW, Bear JE, Loureiro JJ, Gertler FB. *Ena/VASP* proteins: regulators of the actin cytoskeleton and cell migration. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2003, 19: 541–564.
- [24] 苏蕊, 李金泉, 张文广, 尹俊, 赵珺, 常子丽. 骨形态发生蛋白 2 (*BMP2*) 基因在内蒙古绒山羊不同时期皮肤毛囊中的表达. 中国农业科学, 2008, 41(2): 559–563.
- [25] Rossetti R, Di Pasquale E, Marozzi A, Bione S, Toniolo D, Grammatico P, Nelson LM, Beck-Peccoz P, Persani L. *BMP15* mutations associated with primary ovarian insufficiency cause a defective production of bioactive protein. *Hum Mutat*, 2009, 30(5): 804–810.
- [26] Di Pasquale E, Beck-Peccoz P, Persani L. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (*BMP15*) gene. *Am J Hum Genet*, 2004, 75(1): 106–111.
- [27] Inman M. Jumping genes reveal kangaroos' origins. *PLoS Biol*, 2010, 8(7): e1000437.
- [28] Kaftanovskaya HM, Serov OL. High-resolution GTG-banded chromosomes of cattle, sheep, and goat: a comparative study. *J Hered*, 1994, 85(5): 395–400.
- [29] 孙春晓, 于常海. 基因的染色体定位. 国外医学(遗传学分册), 2000, 23(3): 120–124.
- [30] 张小慧, 李忠花, 张必成, 董利, 周鸣, 曹利, 唐珂, 李伟芳, 李桂源. 染色体 7q32-ter 鼻咽癌相关基因的初步研究. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28(5): 711–716.