

# 中国荷斯坦牛 *STAT5A* 基因遗传多态性与泌乳性状的相关分析

鲍 斌<sup>1</sup>, 房兴堂<sup>1</sup>, 陈 宏<sup>1,2</sup>, 张润锋<sup>2</sup>, 严林俊<sup>3</sup>, 张海军<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>徐州师范大学细胞与分子生物学研究所, 江苏徐州 221116; <sup>2</sup>西北农林科技大学动物科技学院/陕西省农业分子生物学重点实验室, 陕西杨凌 712100; <sup>3</sup>南通农业职业技术学院, 江苏南通 226007)

**摘要:**【目的】研究 *STAT5A* 基因多态性与中国荷斯坦牛泌乳性状的相关性, 为进一步加快育种进程提供参考依据。【方法】利用 PCR-SSCP 技术对 279 头中国荷斯坦牛的 *STAT5A* 基因的 P<sub>1</sub> 和 P<sub>2</sub> 两个位点进行群体遗传学检测; 计算其基因频率和基因型频率, 并对多态性与泌乳性状进行相关性分析。【结果】发现在 *STAT5A*P<sub>1</sub> 和 *STAT5A*P<sub>2</sub> 两个位点上分别存在 3 种多态以及 7 种单倍型组合。*STAT5A*P<sub>1</sub> 位点的 AA、GG 和 AG 的基因型频率分别为 0.2401、0.1470 和 0.6129, A 和 G 的基因频率分别为 0.5466 和 0.4534, 不同基因型对第 1 胎产奶量、乳蛋白率和第 2 胎乳蛋白率存在显著影响; *STAT5A*P<sub>2</sub> 位点的 CC、TT 和 CT 的基因型频率分别为 0.7527、0.0036 和 0.2437, C 和 T 的基因频率分别为 0.8746 和 0.1254, 不同基因型对第 2 胎乳蛋白率有显著影响; 7 种单倍型组合 AACC、AGCC、AACT、AGCT、GGCT、GGCC 和 AATT 的频率分别为 0.1864、0.4624、0.0502、0.1505、0.0430、0.1039 和 0.0036, 不同单倍型与第 1 和 2 胎产奶量以及乳蛋白率存在相关性。【结论】*STAT5A* 基因不同基因型和单倍型组合与中国荷斯坦牛产奶量和乳蛋白率存在相关性, 但与乳脂率不相关。

**关键词:** *STAT5A*; PCR-SSCP; 中国荷斯坦牛; 多态性; 单倍型

## Polymorphisms of *STAT5A* Gene and Its Association with Milk Performance Traits in Chinese Holstein Cattle

BAO Bin<sup>1</sup>, FANG Xing-tang<sup>1</sup>, CHEN Hong<sup>1,2</sup>, ZHANG Run-feng<sup>2</sup>, YAN Lin-jun<sup>3</sup>, ZHANG Hai-jun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Cellular and Molecular Biology, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu; <sup>2</sup>College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University/Shaanxi Key Laboratory of Biology for Agriculture, Yangling 712100, Shaanxi; <sup>3</sup>Nantong Agriculture College, Nantong 226007, Jiangsu)

**Abstract:**【Objective】The polymorphisms of *STAT5A* gene and their correlation to milk performance traits in Chinese Holstein cattle were investigated for the purpose of providing molecular marker information to facilitate the breeding efficiency.【Method】PCR-SSCP was applied to analyze the polymorphisms of two loci in *STAT5A* gene in 279 Chinese Holstein cattle. Genotypic frequencies, allelic frequencies, correlation analysis between the polymorphisms and milk performance traits were estimated.【Result】Three genotypes and seven haplotype combinations were found at the two loci. The frequencies of genotypes AA/GG/AG were 0.2401/0.1470/0.6129 and those of alleles A/G were 0.5466/0.4534 at locus P<sub>1</sub>. The result showed that the genotypes had significant effect on milk yield in the first lactation and protein rate in both the first and second lactations. Genotypic frequencies of CC/TT/CT were 0.7527/0.0036/0.2437 and allelic frequencies of C/T were 0.8746/0.1254 at locus P<sub>2</sub>. Different genotypes had remarkable influence on protein rate in the second lactation. In addition, the frequencies of seven haplotype combinations were 0.1864, 0.4624, 0.0502, 0.1505, 0.0430, 0.1039, and 0.0036, and different haplotype combinations affected the milk yield and protein rate in the first and second lactations.【Conclusion】The correlation was detected between different genotypes and haplotype combinations and milk yield and protein rate at these two loci, but there was no correlation between the polymorphisms and milk fat rate.

收稿日期: 2006-10-31; 接受日期: 2007-03-12

基金项目: 国家“863”计划项目(2006AA10Z197), 陕西省自然科学基金(2004C122), 徐州师范大学重点人才基金(XY200234)和西北农林科技大学拔尖人才支持计划资助

作者简介: 鲍 斌(1982-), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向为分子遗传学。Tel: 0516-83500087; E-mail: wenwu101@sina.com。通讯作者陈 宏(1955-), 男, 陕西西安人, 教授, 研究方向为生物技术与动物遗传育种。Tel: 0516-83500087; E-mail: chen hong1212@263.net

Key words: *STAT5A*; PCR-SSCP; Chinese Holstein cattle; Polymorphism; Haplotype

## 0 引言

【研究意义】产奶性能是奶牛的重要数量性状,对奶牛的生产产生巨大的影响。采用传统的选择方法对这些性状进行选择,虽然也取得了一定的进展,但往往花费较多,世代间隔较长,因而奶牛育种工作者一直在寻找快速而廉价的方法对奶牛的数量性状进行选择。PCR-SSCP 作为一种分子水平的标记,以其独特的优点被逐渐应用于奶牛遗传多态性及其与泌乳性状关系的研究中。【前人研究进展】信号转导与转录激活因子 (signal transduction and activator of transcription, *STATs*) 家族是一种能与 DNA 结合的蛋白家族,与酪氨酸磷酸化信号通路偶联,发挥转录调控作用,它能把细胞外信号与基因表达调控直接联系起来<sup>[1-3]</sup>。已发现 *STAT1*、*STAT2*、*STAT3*、*STAT4*、*STAT5A*、*STAT5B* 和 *STAT6* 共 7 个家族成员,其编码基因在染色体上紧密连锁,说明它们可能是共同基因进化的结果<sup>[4]</sup>。*STATs* 的功能具有一定的细胞因子特异性,通过小鼠 *STATs* 基因的敲除及其表型的分析,在一定程度上揭示了 *STATs* 家族分子的生理功能<sup>[5-8]</sup>。试验显示, *STATs* 信号对正常的细胞功能是必要的,例如对胚胎的发育、器官发生和功能、先天性和获得性的免疫功能、细胞分化、生长和凋亡的调控等<sup>[9-12]</sup>。【本研究切入点】信号转导与转录激活因子 5 (*STAT5*) 是转录因子家族成员之一,在催乳素基因与乳蛋白基因间的信号传递过程中发挥重要作用<sup>[13-15]</sup>。*STAT5* 二聚体能够与乳蛋白基因启动区的 GAS 序列结合<sup>[16]</sup>。因此, *STAT5* 基因被认为是乳蛋白产量与乳蛋白率相关的候选基因。*STAT5* 以两种紧密相关的形式存在 *STAT5A* 和 *STAT5B*,并由两个独立的基因编码。基因敲除实验证实 *STAT5* 具有促进乳腺发育和催乳的作用。牛 *STAT5A* 和 *STAT5B* 基因与 *STAT3* 基因共同存在于第 19 号染色体长臂上 40 kb 区域, *STAT5A* 有 19 个外显子,编码 794 个氨基酸。牛乳蛋白基因在奶牛上皮细胞中的表达在很大程度上受到催乳素介导的 *STAT5A* 转运因子的影响<sup>[17-19]</sup>。因此, *STAT5A* 基因被认为是奶牛产奶量潜在的数量性状位点和遗传标记位点。【拟解决的关键问题】本研究以随机方式选取了中国荷斯坦牛个体 279 头,利用 PCR-SSCP 方法分析了 *STAT5A* 基因的遗传变异,以期为奶牛产乳性状的选择提供理论基础。

## 1 材料与方方法

### 1.1 试验材料

分别从徐州云龙湖奶牛场、徐州蟠桃奶牛场和西安奶牛场随机采得无亲缘关系的 279 头健康奶牛静脉血样,抗凝后带回实验室,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。试验个体均有完整的产奶记录。每月测量 2 次,同时取样测定乳成分,根据测值计算个体的总产奶量和平均乳成分含量。个体产奶量根据校正系数校正成 305 d 产奶量<sup>[20]</sup>。参照文献<sup>[21,22]</sup>的方法从血样中提取基因组 DNA。

### 1.2 PCR 引物的设计

引物参考文献<sup>[19,23]</sup>,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,其序列如下: *STAT5A* P<sub>1</sub> F: 5'ccagggtgcatacaggacag 3', R: 5'cgagggttacgaggactcagg 3'; *STAT5A* P<sub>2</sub> F: 5'agcctacagctccaatcct 3', R: 5'gggtgtaccgctgcttag 3'。

### 1.3 PCR-SSCP 分析及测序

PCR 反应体系和条件参考文献<sup>[19,23]</sup>。PCR 产物经变性后,聚丙烯酰胺凝胶电泳,再银染显色和判型。在群体中选出 4 个基因型纯合个体 PCR 产物送交上海生工生物工程技术服务有限公司测序,测序仪器为 ABI PRISM 3730。

### 1.4 数据的统计处理

对测得的基因型进行统计,计算出基因频率和基因型频率,并进行  $\chi^2$  检验。采用 SPSS 软件 GLM (General Linear Models) 程序,用 Duncan 法进行多重比较,配合下列模型,对 305 d 产乳量、乳蛋白率和乳脂率 3 个性状进行最小二乘方差分析:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + S_j + H_k + \varepsilon_{ijk}$$

其中,  $Y_{ijk}$  = 性状表型值;  $\mu$  = 群体均值;  $G_i$  = 基因型的固定效应;  $S_j$  = 产犊季节的固定效应;  $H_k$  = 场次的固定效应;  $\varepsilon_{ijk}$  = 随机残差效应。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序分析

对各样本的测序结果用 DNAMAN 软件与 GenBank 序列 AJ237937 比对分析发现, P<sub>1</sub> 位点的 PCR 扩增片段长度为 224 bp,包含 *STAT5A* 部分内含子 9 和外显子 10,在 9501 处存在一个 A→G 的点突变,位于内含子区域,与文献<sup>[19]</sup>中报道的一致。P<sub>2</sub> 位点的 PCR 扩增片段长度为 281 bp,包含 *STAT5A* 部分内

含子 15 和外显子 16, 在 12735 处新发现有 C→T 点突变 (图 1), 位于外显子区域, 该突变将导致氨基酸

发生变化 (T→I) 即由苏氨酸→异亮氨酸。图 1 左侧序列图中的基因序列同 AJ237937 一致, 而右侧图中

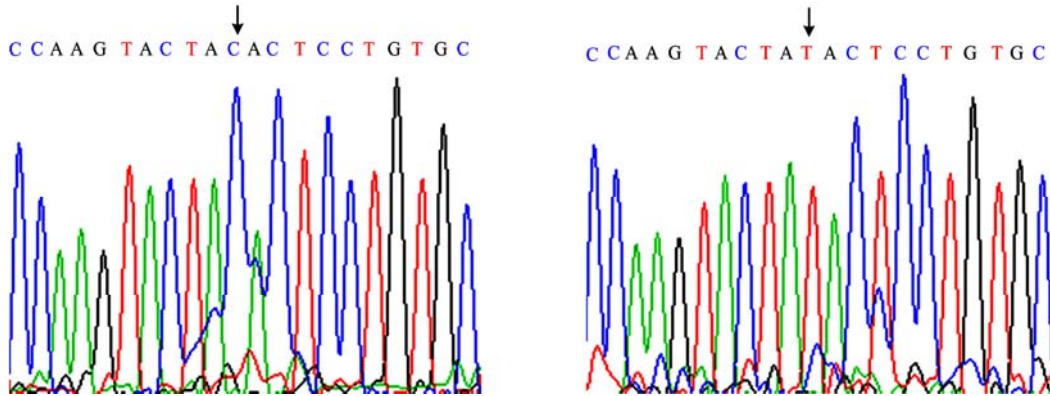


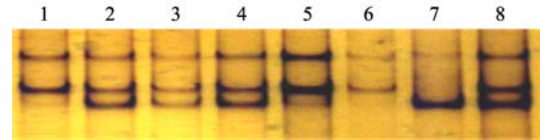
图 1 STAT5A P<sub>2</sub> 扩增片段基因测序结果

Fig. 1 The sequencing results of STAT5A P<sub>2</sub> gene

存在一个 C→T 的突变。

2.2 基因频率、基因型频率与单倍型频率

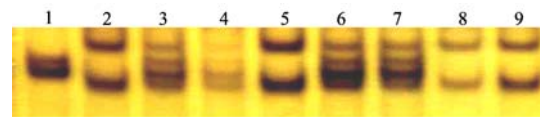
SSCP 分析结果显示 (图 2), 中国荷斯坦牛 STAT5A 基因 P<sub>1</sub> 位点含有 2 个等位基因 (A 和 G), 3 种基因型 (AA、GG 和 AG 型)。由表 1 可知, AA、GG 和 AG 的基因型频率分别为 0.2401、0.1470 和 0.6129, A 和 G 的基因频率分别为 0.5466 和 0.4534, 经卡方检验, 该位点极显著地偏离 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P < 0.01$ )。由图 3 可知, 中国荷斯坦牛 STAT5A 基因 P<sub>2</sub> 位点含有 2 个等位基因 (C 和 T), 3 种基因型 (CC、TT 和 CT 型)。其基因频率和基因型频率见表 1。由表 1 可知, 在检测的 279 头中国荷斯坦牛个体中, CC、TT 和 CT 的基因型频率分别为 0.7527, 0.0036 和 0.2437, C 和 T 的基因频率分别为 0.8746 和 0.1254, 经卡方检验, 该位点处于 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ )。



1, 2, 3, 4, 5 和 8: AG 型; 6: AA 型; 7: GG 型  
1, 2, 3, 4, 5 和 8: AG genotype; 6: AA genotype; 7: GG genotype

图 2 STAT5A P<sub>1</sub> 扩增片段的 SSCP 分析

Fig. 2 SSCP analysis of PCR amplification of STAT5A P<sub>1</sub>



2, 5, 8 和 9: CC 型; 1: TT 型; 3, 4, 6 和 7: CT 型  
2, 5, 8 和 9: CC genotype; 1: TT genotype; 3, 4, 6 和 7: CT genotype

图 3 STAT5A P<sub>2</sub> 扩增片段的 SSCP 分析

Fig. 3 SSCP analysis of PCR amplification of STAT5A P<sub>2</sub>

表 1 STAT5A P<sub>1</sub> 基因座的基因频率和基因型频率

Table 1 Allelic and genotypic frequencies at STAT5A P<sub>1</sub> locus

位点 Locus	样本含量 Number	基因型频率 Genotypic frequency		基因频率 Allelic frequency		位点平衡 $\chi^2$ 测验 Locus equilibrium $\chi^2$ test
STAT5A P <sub>1</sub>	279	AA	0.2401	A	0.5466	不平衡 ( $P < 0.01$ ) Disequilibrium
		AG	0.6129	G	0.4534	
		GG	0.1470			
STAT5A P <sub>2</sub>	279	CC	0.7527	C	0.8746	平衡 ( $P > 0.05$ ) Equilibrium
		CT	0.2437	T	0.1254	
		TT	0.0036			

2 个多态位点单倍型分析结果见表 2, 共出现了 7 种单倍型组合, 分别是 AACC、AGCC、AACT、AGCT、GGCT、GGCC 和 AATT, 它们的频率分别为 0.1864、0.4624、0.0502、0.1505、0.0430、0.1039 和 0.0036, 最高单倍型组合 AGCC 的频率与最低单倍型组合 AGTT 的频率相差 128 倍。分析可知, 这 7 种组合是由 A+C, A+T, G+C 和 G+T 这 4 种单倍型组合而成的, 它们的频率分别为 0.5180、0.0287、0.3566 和 0.0968。单倍型 A+T 频率最低, 而单倍型 A+C 频率最高, 两者相差 18 倍。

表 2 *STAT5A* 基因单倍型组合频率

Table 2 Frequencies of haplotype combinations of *STAT5A*

单倍型组合频率 Haplotype combination frequencies	
AACC	52(0.1864)
AGCC	129(0.4624)
AACT	14(0.0502)
AGCT	42(0.1505)
GGCT	12(0.0430)
GGCC	29(0.1039)
AATT	1(0.0036)

表 3 不同 *STAT5A* P<sub>1</sub> 基因型的产奶性状的最小二乘均值及标准误

Table 3 Least squares mean (LSM) and standard error (SE) for milk yield, fat and protein rates of different *STAT5A* P<sub>1</sub> genotypes

胎次 Lactation	基因型 Genotype	305 d 奶产量 305 d milk yield (kg)	乳脂率 Fat rate(%)	乳蛋白率 Protein rate (%)
I	AA (67)	7265.34a±207.38	3.55±0.15	2.28b±0.05
	AG (171)	6876.94b±129.81	3.66±0.12	3.02a±0.04
	GG (41)	6320.51b±268.39	3.72±0.19	3.05a±0.07
II	AA (67)	7087.49±198.66	3.27±0.10	2.49b±0.05
	AG (171)	6653.44±124.35	3.73±0.08	3.27a±0.04
	GG (41)	6904.10±253.95	3.76±0.13	3.67a±0.07

同列同胎次中具有不同小写字母的平均值间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同

Means with the different small letters within the same column and lactation differ significantly ( $P < 0.05$ ). The same as below

表 4 不同 *STAT5A* P<sub>2</sub> 基因型的产奶性状的最小二乘均值及标准误

Table 4 Least squares mean (LSM) and standard error (SE) for milk yield, fat and protein rates of different *STAT5A* P<sub>2</sub> genotypes

胎次 Lactation	基因型 Genotype	奶产量 Milk yield (kg)	乳脂率 Fat rate (%)	乳蛋白率 Protein rate (%)
I	CC (210)	6812.65±116.45	3.68±0.09	3.01±0.04
	CT (68)	6690.34±204.65	3.50±0.16	3.01±0.06
	TT (1)	7708.42±368.55	3.44±0.19	3.25±0.03
II	CC (210)	6836.75±112.79	3.19±0.07	2.64b±0.04
	CT (68)	6454.47±198.20	3.14±0.12	3.56a±0.06
	TT (1)	7447.52±364.42	3.25±0.23	3.88a±0.09

### 2.3 *STAT5A* 基因单位点基因型和单倍型组合与产乳性状的关系

最小二乘分析的结果见表 3 和表 4。由表 3 可知, 中国荷斯坦牛 *STAT5A* 基因 P<sub>1</sub> 位点不同基因型与第 1 胎的 305 d 奶产量和乳蛋白率以及第 2 胎的乳蛋白率存在相关性, 而与第 1, 2 胎乳脂率不存在相关性。在第 1 胎 305 d 奶产量上, AA 基因型个体显著高于 AG 和 GG 基因型个体 ( $P < 0.05$ ), AG 和 GG 基因型个体之间差异不显著 ( $P > 0.05$ ); AG 和 GG 基因型个体的第 1 和第 2 胎乳蛋白率均显著高于 AA 基因型个体 ( $P < 0.05$ )。由表 4 可知, 中国荷斯坦牛 *STAT5A* 基因 P<sub>2</sub> 位点不同基因型与第 2 胎乳蛋白率存在相关性, 而与第 1 胎蛋白率及第 1, 2 胎产奶量及乳脂率不存在相关性。在第 2 胎乳蛋白率上, CT 基因型个体显著高于 CC 基因型个体 ( $P < 0.05$ )。

经最小二乘分析, 中国荷斯坦牛 *STAT5A* 基因不同单倍型组合与第 1, 2 胎产奶量和乳蛋白率存在相关性, 但与第 1, 2 胎乳脂率不存在相关性。由表 5 可知, 在第 1 胎产奶量上的高低排序为: AACC > AGCC > AACT > AGCT > GGCC > GGCT; 在第 2 胎产奶量上的高低排序为: AACC > GGCC > GGCT > AACT > AGCC > AGCT。在第 1 胎乳蛋白率上, AACC < AGCT

表 5 *STAT5A* 基因单倍型组合的产奶性状的最小二乘均值及标准误Table 5 Least squares mean (LSM) and standard error (SE) for milk yield, fat and protein rates of different *STAT5A* haplotype combinations

胎次 Lactation	单倍型组合 Haplotype combination	305 d 奶产量 305 d milk yield (kg)	乳脂率 Fat rate (%)	乳蛋白率 Protein rate (%)
I	AACC	7583.93 aA±575.44	3.63±0.17	2.57 cB ±0.07
	AACT	6930.60 bAB±962.90	3.47±0.32	3.13 aA±0.11
	AGCC	7002.13 bAB±448.96	3.66±0.13	3.12 aA±0.05
	AGCT	6772.00 bB±761.24	3.59±0.23	2.98 bB ±0.09
	GGCC	6660.75 bB±761.27	3.73±0.27	3.05 bA±0.10
	GGCT	6641.33 bB±1243.10	3.42±0.37	3.06 bA ±0.14
II	AACC	7399.64 aA±460.06	3.25±0.12	2.51 cB±0.07
	AACT	7059.80 bA±769.83	3.46±0.20	2.99 bA±0.11
	AGCC	6760.74 cB±358.94	3.69±0.09	3.17 aA±0.05
	AGCT	6756.25 cB±608.61	3.71±0.16	3.13 aA±0.09
	GGCC	7307.88 abA±608.67	3.89±0.18	3.11 aA±0.12
	GGCT	7206.00 abA±993.85	3.40±0.25	2.95 bA±0.14

同列同胎次中具有不同小写字母上标的平均值间差异显著( $P < 0.05$ ), 不同大写字母的平均值间差异极显著( $P < 0.01$ )

Means with the different small letters within the same column and lactation differ at  $P < 0.05$  and means with different capital letters within the same column and lactation differ at  $P < 0.01$

<GGCC<GGCT<AGCC<AACT; 在第 2 胎乳蛋白率上, AACC<GGCT<AACT<GGCC<AGCT<AGCC。

#### 2.4 产奶性能的基因替代效应值

由表 6 可知,  $P_1$  座位 A 基因对 G 基因的替代使第 1 胎乳脂率和乳蛋白率分别降低 0.08%和 0.35%, 使 305 d 奶产量增加 480.25 kg, 使第 2 胎乳脂率和乳蛋白率分别降低 0.22%和 0.57%, 使 305 d 奶产量增加 59.79 kg, 说明 G 基因对乳脂率和乳蛋白率有正效应, 对奶产量有负效应。 $P_2$  座位 C 基因对 T 基因的替代使第 1 胎乳蛋白率降低 0.21%, 使 305 d 奶产量降低 875.08 kg, 使第 2 胎乳蛋白率降低 0.40%, 使 305 d 奶产量降低 820.58 kg, 说明 C 基因对乳蛋白率和奶产量有负效应。

表 6 产奶性能的基因替代效应值

Table 6 Allele substitution effects on milk performance traits

等位基因 Allele	胎次 Lactation	305 d 奶产量 305 d milk yield (kg)	乳脂率 Fat rate (%)	乳蛋白率 Protein rate (%)
<i>STAT5A</i> $P_1$ A	I	480.25	-0.08	-0.35
	II	59.79	-0.22	-0.57
<i>STAT5A</i> $P_2$ C	I	-875.08	0.08	-0.21
	II	-820.58	-0.09	-0.40

### 3 讨论

*STAT5A* 作为一种乳腺生长因子, 它与催乳素刺激的细胞  $\beta_2$  酪蛋白基因启动子相结合, 具有催乳作用。*STAT5B* 有 90%以上氨基酸序列与 *STAT5A* 相同。基因敲除 *STAT5A* 的雌性动物不能有正常的乳房组织发育和泌乳, 其 *STAT5B* 亦不能被激活<sup>[24]</sup>。在与奶牛产奶性状相关的标记基因中, *STAT5* 被认为是催乳素到乳蛋白过程中重要的促进因子, 其单核苷酸多态性可能会影响到牛乳中的化学成分, 也可用作奶牛基因组有效地 DNA 标记。

Antonion 等和 Flisikowski 等分别报道了 *STAT5A* 基因的 SSCP 多态性<sup>[23,25]</sup>。Oprzadek 等利用 PCR-RFLP 方法(AvaI 酶切)在外显子 7 第 6853 位置发现了 C→T 突变<sup>[26]</sup>。Brym 等检测了 9 个 DNA 片段, 在内含子 9 中发现多态, 且两种基因的基因频率在娟姗牛和荷斯坦牛中几乎相同<sup>[19]</sup>。Flisikowski 等在内含子 15 中发现 CCT 缺失, 在外显子 16 中发现 T→C 突变, 该突变导致 DNA 片段增加了一个 MslI 酶切位<sup>[23]</sup>。本研究中, *STAT5A*  $P_1$  引物与 Brym 等相同, 并在内含子 9 上也发现多态, 但本研究群体在该位点极显著地偏离平衡 ( $P < 0.01$ ), 这与 Brym 等的报道不一致, 同时  $P_2$  位点却处于平衡 ( $P > 0.05$ ) 状态, 其原因可能有以下几种: (1) 对种畜的选择的影响; (2) 对经济性状选择的

影响; (3) 对环境的适应性; (4) 人工授精技术的应用; (5) 样本容量的限制。本研究中所出现的不平衡可能是: 中国荷斯坦牛是长期选育的品种, 承受人工选择的压力较大, 有可能两个位点与不同的经济性状相关, 两处的选择压力不同。Brym 等报道 *STAT5A* P<sub>1</sub> 位点基因型与娟姗牛的第 1, 2 胎的产奶量、乳脂含量及乳蛋白含量都显著相关; 同时在当地荷斯坦牛上也发现了多态性, 但与生产性状诸多指标都不相关<sup>[19]</sup>。本研究却在中国荷斯坦牛上发现 *STAT5A* 基因 P<sub>1</sub> 位点的多态性与泌乳性状部分指标存在相关性。造成不同结论的原因可能有: (1) 样本的差异会导致某些基因型数量上的差异; (2) 饲养水平等外界因素不同而造成性能差异。因此, 需要加大样本量进一步研究该位点多态性与奶牛产奶性能的相关性。本研究在 *STAT5A* P<sub>2</sub> 位点发现新多态, TT 型个体的 DNA 序列有 C→T 点突变, 并导致氨基酸发生变化, 但 TT 型个体只发现一个, C→T 点突变是否是中国荷斯坦牛所特有, 还有待深入研究。对 *STAT5A* 的两个位点进行单倍型组合研究中, 单倍型 A+C 频率最高, 这与单位点分析中的 A、C 基因为优势基因完全一致。

#### 4 结论

*STAT5A* 是由 19 个外显子组成的复合体, 大多数多态性研究都集中在有重要功能的外显子上。在以往文献中对由 9~19 外显子编码的 3 个重要的功能区域: DNA 结合区、SH<sub>2</sub> 区和 C-端转录起始区都进行了检测, 以求发现多态<sup>[18,19]</sup>。本次研究运用 PCR-SSCP 及序列测定技术发现在中国荷斯坦牛的 *STAT5A* 基因的内含子 9 和外显子 16 存在多态, 且多态及其单倍性组合与部分泌乳性状相关。尽管 P<sub>1</sub> 位点的突变位于内含子, 但内含子序列可能在基因的转录及 mRNA 剪接中起重要作用, 因此, 这一多态对泌乳性状的影响需要进一步研究。

#### References

- [1] Milocco L H, Haslam J A, Rosen J, Seidel H M. Design of conditionally active *STATs*: insights into *STAT* activation and gene regulatory function. *Molecular and Cellular Biology*, 1999, 19: 2913-2920.
- [2] Li S, Rosen J M. Nuclear factor I and mammary gland factor (*STAT5*) play a critical role in regulating rat whey acidic protein gene expression in transgenic mice. *Molecular and Cellular Biology*, 1995, 15: 2063-2070.
- [3] Matsumoto A, Seki Y, Kubo M, Ohtsuka S, Suzuki A, Hayashi I, Tsuji K, Nakahata T, Okabe M, Yamada S, Yoshimura A. Suppression of *STAT5* functions in liver, mammary glands, and T cells in cytokine-inducible SH2-containing protein 1 transgenic mice. *Molecular and Cellular Biology*, 1999, 19: 6396-6407.
- [4] 李荣江. 信号传导与转录活化因子和肿瘤靶向治疗. 医师进修杂志(外科版), 2004, 27(2): 56-59.  
Li R J. Signal transduction and activator of transcription and tumour target cure. *Journal of Postgraduates of Medicine (Surgery Edition)*, 2004, 27(2): 56-59. (in Chinese)
- [5] Levy D E. Physiological significance of *STAT* proteins: investigations through gene disruption *in vivo*. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1999, 55: 1559-1567.
- [6] Woelfle J, Billiard J, Rotwein P. Acute control of insulin-like growth factor-I gene transcription by growth hormone through *Stat5b*. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278: 22696-22702.
- [7] Novak U, Mui A, Miyajima A, Paradiso L. Formation of *STAT5*-containing DNA binding complexes in response to colony-stimulating factor-1 and platelet-derived growth factor. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271: 18350-18354.
- [8] Xu B C, Wang X, Darus C J, Kopchick J J. Growth hormone promotes the association of transcription factor *STAT5* with the growth hormone receptor. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271: 19768-19773.
- [9] Mui A L. The role of *STATs* in proliferation, differentiation, and apoptosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1999, 55: 1547-1558.
- [10] Boucheron C, Dumon S, Santos S C R, Moriggl R, Hennighausen L, Gisselbreche S, Gouilleux F. A single amino acid in the DNA binding regions of *STAT5A* and *STAT5B* confers distinct DNA binding specificities. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273: 33936-33941.
- [11] Flisikowski K, Starzynski R R, Zwierzchowski L. Promoter variant-dependent expression of the *STAT5A* gene in bovine liver. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2004, 1679(2): 195-199.
- [12] Park S H, Yamashita H, Rui H, Waxman D J. Serine phosphorylation of GH-activated signal transducer and activator of transcription 5a (*STAT5a*) and *STAT5b*: impact on *STAT5* transcriptional activity. *Molecular Endocrinology*, 2001, 15: 2157-2171.
- [13] Yang J, Kennelly J J, Baracos V E. The activity of transcription factor *Stat5* responds to prolactin, growth hormone, and *IGF-I* in rat and bovine mammary explant culture. *Journal of Animal Science*, 2000, 78: 3124-3125.

- [14] Yang J, Kennelly J J, Baracos V E. Physiological levels of *Stat5* DNA binding activity and protein in bovine mammary gland. *Journal of Animal Science*, 2000, 78: 3126-3134.
- [15] Liu X, Robinson G W, Gouilleux F, Groner B, Hennighausen L. Cloning and expression of *Stat5* and an additional homologue (*Stat5b*) involved in prolactin signal transduction in mouse mammary tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92: 8831-8835.
- [16] Soldaini E, John S, Moro S, Bollenbacher J, Schindler U, Leonard W J. DNA binding site selection of dimeric and tetrameric *Stat5* proteins reveals a large repertoire of divergent tetrameric *Stat5a* binding sites. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, 20(1): 389-401.
- [17] Molenaar A, Wheeler T T, McCracken J Y, Seyfert H M. The *STAT3*-encoding gene resides within the 40 kbp gap between the *STAT5A*- and *STAT5B*-encoding genes in cattle. *Animal Genetics*, 2000, 31(5): 339-340.
- [18] Seyfert H M, Pitra C, Meyer L, Brunner R M, Wheeler T T, Molenaar A, McCracken J Y, Herrmann J, Thiesen H J, Schwerin M. Molecular characterization of *STAT5A*- and *STAT5B*-encoding genes reveals extended intragenic sequence homogeneity in cattle and mouse and different degrees of divergent evolution of various domains. *Journal of Molecular Evolution*, 2000, 50: 550-561.
- [19] Brym P, Kaminski S, Rusc A. New SSCP polymorphism within bovine *STAT5A* gene and its associations with milk performance traits in Black-and-White and Jersey cattle. *Journal of Applied Genetics*, 2004, 45: 445-452.
- [20] 祝梅香, 张 沅. 北京地区荷斯坦牛乳蛋白多态性与产奶性能的相关分析. 中国畜牧杂志, 2000, 36(2): 3-6.  
Zhu M X, Zhang Y. Analysis of correlation between milk protein polymorphisms and dairy performance of Chinese Holstein in Beijing. *Chinese Journal of Animal Science*, 2000, 36(2): 3-6. (in Chinese)
- [21] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南 (第2版). 北京: 科学出版社, 1999.  
Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd ed). Beijing: Science Press, 1999. (in Chinese)
- [22] 赵春江, 张 沅, 李 宁. 中国荷斯坦牛乳蛋白分子遗传多态性和产奶性状相关性的研究. 黄牛杂志, 1999, 25(1): 13-16.  
Zhao C J, Zhang Y, Li N. Research on the relationship between molecular genetic polymorphism milk protein and dairy traits in Chinese Holsteins. *Journal of Yellow Cattle Science*, 1999, 25(1): 13-16. (in Chinese)
- [23] Flisikowski K, Szymanowska M, Zwierzchowski L. The DNA-binding capacity of genetic variants of the bovine *STAT5A* transcription factor. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2003, 8: 831-840.
- [24] 王 红, 韩一平, 刘忠令. 信号转导和转录激活因子 *STATs* 研究进展. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2000, 20: 354-357.  
Wang H, Han Y P, Liu Z L. Advancement of signal transduction and activator of transcription. *Foreign Medical Sciences-Section of Pathophysiology and Clinical Medicine*, 2000, 20: 354-357. (in Chinese)
- [25] Antoniou E, Hirst B J, Grosz M, Skidmore C J. A single strand conformational polymorphism in the bovine gene *STAT5A*. *Animal Genetics*, 1999, 30(3): 232.
- [26] Oprzadek J, Flisikowski K, Zwierzchowski L, Dymnicki E. Polymorphisms at loci of leptin (*LEP*), *Pit1* and *STAT5A* and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black-and-White bulls. *Animal Science Papers and Reports*, 2003, 21: 135-145.

(责任编辑 高 雨)