

哺乳动物白色基因座(KIT 基因)的研究现状

张巧灵^{1,2}, 宋德光¹, 孟日增¹, 姜俊兵¹, 董常生^{2*} (1. 吉林大学农学部畜牧兽医学院, 吉林长春 130062; 2. 山西农业大学动物科技学院, 山西太谷 030801; 3. 吉林出入境检验检疫局技术中心, 吉林长春 130062)

摘要 哺乳动物的毛色是由真黑色素及伪黑色素构成的, 二者编码的蛋白在细胞内的相对含量决定了最终的毛色表型。黑色素的生物合成与经典的白色位点编码的 KIT 受体密切相关, KIT 基因的突变会降低干细胞生长因子受体的活性。综述了 KIT 基因的作用机理、不同哺乳动物 KIT 基因的定位、突变分析、KIT 基因对毛色的影响及在动物生产中的研究意义。

关键词 哺乳动物; 毛色; 白色基因座

中图分类号 Q959.8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2005)24-10470-02

影响哺乳动物毛色表型的色素主要为黑色素, 它是棕黑色物质, 是决定皮肤颜色的重要因素。黑色素又可分为2种: 一种是“褐黑色素”(也称“伪黑色素”), 为溶于碱的圆形红色颗粒, 表现黄毛色和红毛色; 另一种是“真黑色素”, 比褐黑色素难以溶解, 表现为褐色和黑色。白色, 是黑色素细胞少, 黑素体内黑色素也少, 毛根中也明显缺乏黑色素细胞及其前体的缘故^[1]。但也有人认为, 由于细胞中黑色素颗粒的大小和含量的差别以及黑色素细胞合成色素的速度不同, 决定了不同种族和个体不同皮肤颜色的差异。

在显性白色座位 I 上, 提出过多种等位基因。Hetzer 证实, 显性白色仅由颜色抑制基因 I 控制^[2-4]。20 多年后, 随着生命科学与生物技术的蓬勃发展, 毛色研究一改过去由表型判断基因型的方法, 直接从分子水平上提出了控制毛色的 I 位点的3个等位基因: I、I^P、i, 其中 I 调控显性白毛色; 并证明, 编码肥大/干细胞生长因子受体的 KIT 基因等同于 I 基因。

1 KIT 基因的作用机理

“肥大/干细胞生长因子受体”属酪氨酸激酶受体 (RTKs) 家族, 由 KIT 基因编码, 能够表达黑色素细胞前体物^[5]。其配体为“青灰细胞生长因子(steel cell growth factor, SCF)”, 存在分泌型和膜结合型2种形式, 分泌型决定黑色素细胞前体的迁移, 而膜结合型决定黑色素细胞前体的存活。SCF 先于黑色素细胞前体在生皮节与上表皮的通道间扩散。黑色素细胞前体物的正常迁移与存活依赖于 KIT 的表达及其配体的可利用程度, 即特定神经嵴细胞亚群的迁移依赖于酪氨酸激酶受体的差异表达(differential expression)及其配体的活性。当2种形式的SCF存在时, 可引导黑色素细胞前体物迁移, 确保前体物的存活。黑色素细胞前体物如能在生皮节与上表皮间的通道正常迁移, 将产生黑色素细胞; 如果 c-KIT 发生异位表达, 或 SCF 转换产物扰乱了 SCF 在通道中的扩散, 黑色素细胞的迁移模式将随之改变, 从而导致哺乳动物毛根中缺乏黑色素细胞及其前体物, 呈现白毛色。

2 KIT 基因的定位与突变分析

KIT 基因的突变将可能影响黑色素细胞的增殖、迁移和存活, 并且与原始生殖细胞和造血干细胞的发育和成熟有关。黑色素细胞对酪氨酸激酶受体水平的任何微小的活性影响都是十分敏感的。White (W) 突变有3个影响: 毛色素沉

积与缺陷、无生殖细胞和贫血, W 突变在胚胎发育中的作用导致迁移细胞前体数量减少甚至为零。W 纯合突变在鼠中表现为贫血、不育和白化病; W 杂合突变在许多哺乳动物中表现为额头产生一块钻石形的白斑^[6], 这种突变也会产生白色的腹部斑块、白色的尾梢和爪, 而在人类中经常表现为斑驳病(piebaldism)。这提示 c-kit 的作用可能是推迟成黑色素细胞的迁移或减少它的数量, 以至于没有黑色素细胞在毛囊发育之前到达。

现已证明, 小鼠显性白位点编码肥大/干细胞生长因子受体, 而块状(Ph)位点编码血小板源生长因子受体 a, 这2个位点和白尾(Rw)位点紧密连锁在5号染色体上。Johansson 等研究野猪与大白猪杂交后代的显性白 I 基因, 通过比较发现, I 基因位于猪的8号染色体上, 与人的4号染色体、鼠的5号染色体、马的连锁群呈现同源性^[7]。纤维素荧光原位杂交(fibin FISH)技术已将 KIT 基因和紧密连锁的 PDGFRA 基因定位于猪8号染色体短臂1.2区。

Marklund 等对白猪(I/I)和汉普夏(i/i)杂交家系个体 KIT 基因的2892 bp 的编码序列进行分析, 发现白猪 mRNA 的 KIT 基因的一个拷贝中缺少外显子17^[8]。进一步对该基因 DNA 外显子17及其前后序列进行序列分析, 发现该突变源于内含子17第1个核苷酸处的碱基替换, 此替换产生了 Na^I 酶的识别位点, 可用于 PCR-RFLP 分析以检测不同毛色猪种间该位点的多态性。

Müller 等通过扩增野公猪与大白母猪杂交家系个体 KIT 基因180~2700 bp 处的外显子片段, 发现有特异扩增片段^[9]。单链构象多态性(SSCP)分析发现, 出现的条带有很大的差异, 片段1电泳时出现4条带, 而片段2电泳时出现了包括这4条带在内的8条带。并测定野公猪为纯合子1/1; 大白母猪中6头为2/2纯合子, 2头为1/2杂合子。通过克隆和序列分析, 揭示了表型为显性白及斑点的猪含有片段1和2; 并且发现, 内含子18处与片段1相比缺失4个碱基, 而对应于斑点表型的片段2在该处不存在缺失。

3 KIT 基因对毛色的影响

Botchkareva 等通过给小鼠局部注射抗 c-KIT 抗体发现, 该做法可以减少毛囊色素, 使小鼠全身变灰, 甚至完全变白, 相应地黑色素细胞的增殖与分化也大量减少; 但在下一个毛发生长周期中又恢复为正常的毛色, 从而得出, 黑色素细胞的增殖与分化不完全依赖于 c-KIT, 但适当的刺激有利于产生黑色素^[10]。

Jackson 研究认为, White (W) 突变有3个影响: 毛色素沉

基金项目 农业部948项目(202096)。

作者简介 张巧灵(1975-), 女, 山西长治人, 博士研究生, 研究方向: 分子遗传学。* 通讯作者。

收稿日期 2008-06-10

积与缺陷、无生殖细胞和贫血^[11]。Mackenzie 等在研究 KIT 活性对胚胎鼠黑色素细胞、造血干细胞的影响时也证实, KIT 基因的突变导致酪氨酸激酶活性降低, 使杂合动物尾部和爪部色素减少, 呈现白色^[12]。

Yoshida 等通过给不同发育阶段的胚胎鼠注射拮抗剂单克隆抗鼠 c-KIT 抗体, 研究后代被毛色素沉积的情况, 发现在交配后 9.5 ~ 11.5 d, 注射的小鼠出生后头尾色素沉积; 交配后 13.0 d 注射的小鼠出生后全身都没有色素沉积; 交配后 14.5 ~ 15.0 d 注射的小鼠出生后呈花斑状, 并证实 c-KIT 在黑色素细胞形成与迁移过程中发挥作用^[13]。

Peters 等在研究黑色素细胞的迁移与 c-KIT 的表达之间的关系发现, 在毛囊发生的前 4 d, 黑色素细胞开始表达 c-KIT, 超微结构研究发现, 黑色素细胞有迁移现象; 毛囊发生 5 ~ 6 d 时, c-KIT 的树枝状突起浸入毛球^[14]。这些研究提示了成黑色素细胞表达 c-KIT 是其迁移到毛囊上皮的必要条件, 而不表达 c-KIT 的黑色素细胞浸入到毛根鞘, 说明在毛囊发生过程中, c-KIT 参与黑色素细胞的存活、迁移和分化过程。

张巧灵等通过免疫组化方法鉴定 KIT 蛋白在羊驼皮肤中的表达情况, 结果显示: 白色羊驼皮肤毛囊周围组织内根鞘和外根鞘着色, 表达 KIT 蛋白, 此外, 结缔组织也有少量表达; 黄色羊驼皮肤毛囊周围则不表达 KIT 蛋白, 呈阴性, 只在表皮下层的结缔组织内可看到少量 KIT 蛋白表达。

4 研究 KIT 基因的意义

KIT 基因的变异, 对于不同动物有不同的表现。对于小鼠来说, KIT 基因的变异不仅导致毛色失调, 而且当 KIT 突变纯合时, 往往对小鼠产生致死或半致死作用。同时对小鼠的造血细胞、原生殖细胞、小肠间质细胞也产生多效影响; 此外, 听力也会受到影响。而对于猪来说, 显性白等位基因在纯合条件下, 完全能存活且能育。在国外, 白毛色的猪倍受屠宰场的偏爱, 而有色猪的屠宰费更高。此外, 白色猪由于吸收紫外线的能力强, 所以抗佝偻病的能力也高, 且发病也易从皮肤上看出。但 Marklund 等的研究表明, 在 I/I 纯合的猪中白细胞的数量普遍减少^[8]。因此, 白毛色猪中 KIT 基因的变异是否会产生温和的多效性影响很值得进一步研究。因为很大比例的培育品种或商品猪将携带此基因, 即使是温和的多效性影响, 对养猪生产的作用也是巨大的。

(上接第 10464 页)

体, 挥发性脂肪酸中乙酸的增加引起乳中乳脂提高。

(3) 直接经济效益: 从试验结果看, 在泌乳奶牛日粮中添加 40 g 复合酶, 日产奶量增加 1.49 kg。按同期鲜奶收购价 2.50 元/kg 计算, 每头奶牛每日多创收 3.73 元, 除去 40 g 复合酶的成本价 0.50 元, 每头每日纯利 3.23 元, 投入产出比为 1.00 : 7.46。同时, 复合酶可以提高饲料的转化利用率, 降低饲养成本, 获得间接经济效益。

(4) 目前, 市场上的饲料添加剂多以化学合成药物、抗生素等构成, 其中有些药物不免有毒副作用, 长期使用, 蓄积在动物体内, 对奶牛及人类产生危害。而复合酶制剂为纯天然

但是, 野生猪中没有完全显性白毛色(目前已知), 这也说明自然条件对白毛色的选择很不利。人们对显性白性状的喜好, 有可能是由于同其紧密连锁的基因对人类有益的原因。猪毛色是品种的重要标志, 在进行杂交育种或利用杂种优势时, 如能弄清各种毛色的遗传规律, 将有利于获得所需要的毛色类型。

小鼠和人 KIT 基因与猪 KIT 基因的对比分析, 将有力地促进猪 KIT 基因的研究。随着进一步研究的深入, KIT 基因变异是否产生温和多效性影响及与该基因紧密连锁基因的分析等问题将会逐步明了。

参考文献

- [1] 白小青, 王金勇, 郁枫, 等. 猪毛色遗传的研究进展[J]. 动物科学与动物医学, 2004, 21(8): 32 - 33.
- [2] HEIZER H O. Inheritance of coat color in swine. . Results of Landrace by Poland China Crosses[J]. Journ of Heredity, 1945, 36: 187 - 192.
- [3] HEIZER H O. Inheritance of coat color in swine. . Results of Landrace by Poland China Crosses[J]. Journ of Heredity, 1945, 36: 255 - 256.
- [4] HEIZER H O. Inheritance of coat color in swine. . Analysis of Hybrids of Landrace and Large Back[J]. Journ of Heredity, 1945, 36: 309 - 312.
- [5] 黄路生, 任军, 陈克飞, 等. 猪显性白毛调控基因(KIT) 的研究[J]. 遗传, 2000, 22(6): 434 - 436.
- [6] JOHANSSON M, ELLEGREN H, MARKLUND L, et al. The gene for dominant white color in the pig is closely linked to ALB and PDGFRA on chromosome 8 [J]. Genomics, 1992, 14: 965 - 969.
- [7] JOHANSSON M, CHAUDHARY R, HELLM N E, et al. Pigs with the dominant white coat color phenotype carry a duplication of the KIT gene encoding the mast/stemcell growth factor receptor [J]. Mammalian Genome, 1996, 7: 822 - 830.
- [8] MARKLUND S. Molecular basis for the dominant white phenotype in the domestic Pigs [J]. Genome Research, 1998, 8: 826 - 833.
- [9] JOHANSSON MILLER M, CHAUDHARY R, HELLMEN E, et al. Pigs with the dominant white coat color phenotype carry a duplication of the KIT gene encoding the mast/stemcell growth factor receptor [J]. Mamm Genome, 1996, 7(11): 822 - 830.
- [10] BOTCHKAREVA N V, KHLGAILAN M, LONGLEY B J, et al. Scl/c-Kit signaling is required for cyclic regeneration of the hair pigmentation unit [J]. Faseb Journal, 2001, 15: 645 - 658.
- [11] JACKSON I. Molecular and development genetics of mouse coat color [J]. Annu Rev Genet, 1994, 28: 198 - 217.
- [12] MACKENZIE M A, JORDANS A, BUDDS, et al. Activation of the receptor tyrosine kinase kit is required for the proliferation of melanoblasts in the mouse embryo [J]. Dev Biol, 1997, 192: 99 - 107.
- [13] YOSHIDA H, KUNSAIDA T, KUSAKABE M, et al. Distinct stages of melanocyte differentiation revealed by analysis of non-uniform pigmentation patterns [J]. Development, 1996, 122: 1207 - 1214.
- [14] EVA M J PETERS, DESMOND J TOBIN, NATASHA BOTCHKAREVA, et al. Migration of melanoblasts into the developing murine hair follicle is accompanied by transient c-Kit expression [J]. J Histochem Cytochem, 2002, 50(6): 751 - 766.

发酵的复合制品, 其自身及代谢产物均无害、无残留, 属绿色环保产品。推广应用复合酶制剂饲喂奶牛, 对促进奶牛业发展、保障人民身体健康具有重要意义。

参考文献

- [1] 万明春. 饲用酶制剂的研究与利用[J]. 江西农业学报, 2001, 13(3): 43 - 49.
- [2] 李复兴, 李希沛. 配合饲料大全[M]. 青岛: 山东海洋大学出版社, 1994.
- [3] 刘亚力, 刘宁. 饲用酶制剂的生产技术及其应用[J]. 动物营养学报, 2000(4): 17 - 22.
- [4] 蔡辉益, 刘国华, 于会民. 猪饲料添加剂应用新技术[C]// 猪营养与饲料. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1999: 162 - 165.
- [5] 张艳云, 陆克文. 饲料添加剂[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 116 - 123.
- [6] 周中凯. 饲料复合酶的应用与开发[J]. 粮食与饲料工业, 1997(1): 41 - 42.