

不同品种羊 miR-1298-5p 及其潜在靶基因 *TGF-βRI* 表达的比较研究

张桂山¹, 徐晶^{1,2}, 孙丽敏¹, 白曼¹, 项露杰¹, 姜怀志¹

(¹吉林农业大学动物科学技术学院, 长春 130118; ²长春科技学院动物科学技术学院, 长春 130600)

摘要:旨在探讨 miR-1298-5p 与 *TGF-βRI* 在不同品种羊皮肤毛囊不同发育时期的潜在关系, 为研究 miR-1298-5p 与 *TGF-βRI* 对皮肤毛囊发育作用提供理论研究数据。以绒山羊和细毛羊皮肤毛囊组织为材料, 通过生物信息学方法预测 miR-1298-5p 的靶基因, 采用 qRT-PCR 对 miR-1298-5p 与其潜在靶基因 *TGF-βRI* 进行核酸水平表达检测, 利用 Western blot 对潜在靶基因 *TGF-βRI* 进行蛋白水平表达检测。生物信息学预测结果表明 *TGF-βRI* 的 3'UTR 存在 miR-1298-5p 种子区结合位点。miR-1298-5p 在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊发育的生长期到退行期相对表达量上调而退行期到休止期相对表达量下调, miR-1298-5p 在不同品种羊皮肤毛囊不同发育时期呈现差异性表达。绒山羊皮肤毛囊发育生长期 *TGF-βRI* 基因 mRNA 的相对表达量高于细毛羊, 而退行期和休止期低于细毛羊; 从表达趋势上看, *TGF-βRI* 与 miR-1298-5p 表达趋势相反, 呈现负调控趋势, 说明 *TGF-βRI* 可能为 miR-1298-5p 的靶基因。*TGF-βRI* 蛋白在绒山羊皮肤毛囊发育生长期的相对表达量高于细毛羊, 而退行期和休止期则低于细毛羊, 与核酸水平相对表达量趋势相同, 但都与 miR-1298-5p 表达趋势相反, 更进一步说明 *TGF-βRI* 可能为 miR-1298-5p 的靶基因。

关键词: miR-1298-5p; 细毛羊; 绒山羊; 靶基因; 毛囊发育

中图分类号: Q786

文献标志码: B

论文编号: casb16080015

Comparative Study on Expression of miR-1298-5p and its Potential Target Gene *TGF-βRI* in Fine-wool Sheep and Cashmere Goats

Zhang Guishan¹, Xu Jing^{1,2}, Sun Limin¹, Bai Man¹, Xiang Lujie¹, Jiang Huaizhi¹

(¹College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118;

²College of Animal Science and Technology, Changchun Sci-Tech University, Changchun 130600)

Abstract: The study aimed to investigate the regulation of miR-1298-5p and its potential target gene *TGF-βRI* on skin and hair follicles development at different stages in fine-wool sheep and cashmere goats for obtaining theoretical research data on miR-1298-5p and *TGF-βRI* in the development of skin and hair follicles. Using skin and hair follicles tissues from cashmere goats and fine-wool sheep at different stages as materials, potential target genes of miR-1298-5p were predicted by bioinformatics analysis. Expression of miR-1298-5p and its potential target gene *TGF-βRI* were determined by qRT-PCR. Expression of *TGF-βRI* protein was determined by Weston blot. Bioinformatics analysis showed that 3'UTR of *TGF-βRI* from fine-wool sheep and cashmere goats presented a binding site of miR-1298-5p. Relative expression of miR-1298-5p from fine-wool sheep and cashmere goats were both up regulated from anagen to catagen and down

基金项目: 吉林省科技发展计划项目“肉毛兼用型细毛羊新品种选育及高效扩繁技术”(20160204018NY)。

第一作者简介: 张桂山, 男, 1978 年出生, 吉林榆树人, 讲师, 在读博士, 主要从事羊遗传育种与繁殖研究。通信地址: 130118 长春市新城大街 2888 号吉林农业大学动物科学技术学院, E-mail: zhangguishan204@aliyun.com。

通讯作者: 姜怀志, 男, 1968 年出生, 吉林公主岭人, 教授, 博士生导师, 博士, 主要从事羊遗传育种与繁殖研究。通信地址: 130118 长春市新城大街 2888 号吉林农业大学动物科学技术学院, E-mail: 513540644@qq.com。

收稿日期: 2016-08-02, **修回日期:** 2016-09-17。

regulated from catagen to telogen, and presented difference between fine-wool sheep and cashmere goats. Relative expression of *TGF-βR1* mRNA in cashmere goats was higher than that in fine-wool sheep at anagen and lower at catagen and telogen. And miR-1298-5p and *TGF-βR1* showed a negative regulation trend, which implied that *TGF-βR1* might be the target gene of miR-1298-5p. Relative expression of *TGF-βR1* protein in cashmere goats was also higher than that in fine-wool sheep at anagen and lower at catagen and telogen, being the same as the relative expression of *TGF-βR1* mRNA, which further implied that *TGF-βR1* was target gene of miR-1298-5p.

Key words: miR-1298-5p; fine-wool sheep; cashmere goat; target gene; hair follicle development

0 引言

miRNA 是新发现的一类内源性非编码转录后调控小 RNA,通过作用于靶基因 mRNA 的非编码区抑制靶基因翻译或引起降解,从而参与基因表达调控^[1]。随着研究的深入,越来越多的研究表明,miRNA 参与生命多种调节途径,包括动植物的生长、发育、细胞增殖分化、信号传导及免疫应答反应等^[2]。贾小云等^[3]研究发现 miR-663 通过从 mRNA 和蛋白水平上靶向抑制 *TGF-β1* 表达而影响 *TGF-βSmad* 和 *Wnt* 信号通路,进而影响羊驼黑色素细胞中的黑色素合成。Liu^[4]采用高通量测序技术对藏绵羊皮肤毛囊发育的 3 个时期 miRNAs 进行了测序鉴定,并鉴定了其中 6 个差异表达的 miRNAs,并指出 miRNAs 的靶基因可能参与调控皮肤毛囊发育的 *Wnt* 通路。目前大量 miRNA 研究成果取得了十分重要的科研价值,尤其是倍受关注的 miRNA 调控毛囊发育的机理^[5-7]。因此,本研究以细毛羊与绒山羊毛囊发育不同阶段的皮肤组织为研究对象,在高通量测序的基础上,筛选出差异表达 miRNA,即 miR-1298-5p,并结合生物信息相关软件预测其靶基因,通过体外实验 qRT-PCR 和 Western blot 方法验证 miR-1298-5p 是否对靶基因 *TGF-βR1* 具有调控关系。此外,在利用靶基因预测软件预测靶基因的过程中发现,同一个靶基因 3'UTR 同时存在多个不同 miRNA 的作用位点,也就是说多个 miRNA 可以同时调控同一个靶基因。同一 miRNA 也可调控不同 mRNA 而不影响其完整性,因而一种 miRNA 改变,可影响多种蛋白翻译和信号通道^[8]。*TGF-β* 信号通路可调控细胞的生长、分化、凋亡、迁移及细胞外基质的形成等多种调节功能,*TGF-βR1* 与 *TGF-βR2* 往往在该通路中能起到重要的作用^[9]。曾东等^[10]研究发现 *TGF-β* 异构体及其受体在猪皮肤毛囊的分布和表达规律以及 *TGF-β1* 和 *TGF-β2* 可促进毛囊从生长期向退行期过渡。Gallo^[11]研究发现, *TGF-βR1* 与 *TGF-βR2* 基因敲除小鼠导致 *TGF-β* 减少而引起 Loey-Dietz 综合症。本研究利用基因组学及蛋白质组学的方法,旨在从 miRNA 这一调控途径

出发研究细毛羊与绒山羊皮肤毛囊生长发育,通过 miRNA 的表达规律预测靶基因的表达规律,阐明 miR-1298-5p 及预测的靶基因 *TGF-βR1* 在皮肤毛囊发育不同时期差异表达的机理,为提高细毛羊与绒山羊毛绒产量和品质提供新的研究思路。

1 材料与方法

试验于 2014 年 5 月—2015 年 9 月在吉林农业大学动物科学技术学院实验室进行。

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物及样品采集 分别随机选择年龄为 1.5 周岁左右绒山羊和细毛羊,每个毛囊发育时期各 3 只(绒山羊采集时间为 2014 年 1 月、2014 年 3 月、2014 年 9 月;细毛羊采集时间为 2014 年 9 月、2015 年 1 月、2015 年 5 月),饲养管理条件一致。采集肩部皮肤组织样,取样大小约为 1 cm²,所采集样本迅速放入液氮中速冻,-80℃ 保存备用。

1.1.2 主要试剂及仪器 *TGF-βR1* 抗体购自武汉博欧特生物科技有限公司,二抗购自北京博奥森有限公司,蛋白裂解液、彩色预染蛋白分子量标准购自 promega, ECL 化学发光试剂盒购自碧云天, PVDF 膜美国 3M、垂直蛋白电泳仪、半干电转仪为 Bio-Rad 公司。全自动荧光定量 PCR 仪 Bio-Rad 公司。引物由上海生工有限公司合成。Trizol 等购自大连宝生物有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 引物设计 根据 PCR 引物设计原则,利用 Primer Premier 5.0 软件,分别设计 *miR-1298-5p* 和内参 *U6*, *TGF-βR1* 和内参(*β-action*)的定量 PCR 引物,并由上海生工科技有限公司合成。引物序列见表 1。

1.2.2 生物信息学预测分析 采用 miRNA 在线靶基因预测软件 Targetscan: the targetscan version 6.2(http://www.targetscan.org/vert_60/)、miRanda: (<http://www.microrna.org/microrna/home.do>)和 miRDB: (<http://www.miRdb.org/miRDB/>)等对 miR-1298-5p 的靶基因进行预测,结合调控皮肤毛囊发育相关通路的文献,从中筛选出与毛囊发育相关的靶基因,并对靶基因 *TGF-βR1* 进

表1 引物及序列

基因	引物	序列(5'—3')
<i>miR-1298-5p</i>	RT-primer	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACTACATC
	F-primer	GCGGCGGTTCATTCCGGCTGTCC
	R-primer	ATCCAGTGCAGGGTCCGAGG [*]
<i>U₆</i>	RT-primer	AACGCTTCACGAATTTGCGT
	F-primer	GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT [*]
	R-primer	CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA [*]
<i>TGF-β1</i>	F-primer	CCCTCGAG TGTACCCCAAATAACATCGTCTG
	R-primer	TTGCGGCCGC CTTATGGGAAACACAGCTTATG [*]
<i>β-actin</i>	F-primer	CGCAGAAAACGAGATGAGATTG [*]
	R-primer	GTTGCTAAGGGCAGGATTGG [*]

行验证^[5]。

1.2.3 总 RNA 提取及 cDNA 合成 利用总 RNA 提取试剂盒和 Trizol 提取皮肤毛囊不同时期的总 RNA。琼脂糖凝胶电泳鉴定总 RNA 完整性,并经核酸定量仪测定浓度及纯度。cDNA 反转录参照 TAKARA 的反转录试剂盒进行,于-20℃保存备用。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 采用染料法进行,样本按 20 μL 反应体系:5×Realtime PCR SYBR 10 μL,上游引物(10 μmol/L) 1 μL,下游引物(10 μmol/L) 1 μL,cDNA 1 μL,蒸馏水 7 μL。反应条件为:95℃ 30 s,95℃ 5 s,65℃(60℃) 10 s,72℃ 15 s(收集荧光),40个循环,绘制溶解曲线 65℃ 5 s,95℃ 5 s。整个反应过程中荧光信号的变化由实时荧光定量 PCR 仪监测,每个样品 3个重复。

1.2.5 Western blot 总蛋白提取和浓度测定:在 1.5 mL 离心管中加入 1 mL 裂解液,5 μL 蛋白裂解液,5 μL PMSF,1 μL 蛋白酶抑制剂,并将离心管置于冰盒中,取 100 mg 左右皮肤组织,用干净剪刀将组织剪碎,匀浆 30 min,4℃,12000 r/min 离心 10 min,取上清液即为总蛋白,总蛋白浓度用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定,根据标准曲线计算出蛋白浓度。用 SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒制备分离胶和浓缩胶,浓度分别为 10%、5%,厚度为 1.5 mm。将蛋白样品与 5×SDS-PAGE 上样缓冲液以 4:1 进行混合,100℃水浴 8 min,取 40 μg,

总蛋白上样,彩色预染 Marker。浓缩胶电压 80 V,分离胶电压 100 V,继续电泳直至溴酚蓝泳出分离胶下缘。转膜为半干转膜,剪大小适中的 PVDF 膜(0.45 μm)和 6 张滤纸,按照正极→滤纸→膜→胶→滤纸→负极的顺序,140 mA 转膜 50 min。转膜后采用 5%脱脂奶粉室温摇动封闭 2 h。将一抗用 TBST 稀释至适当浓度(1:1500)放在抗体孵育盒中,4℃冰箱过夜,二抗室温摇床孵育 1 h(二抗用 TBST 稀释 1:2000),进行 ECL 化学发光反应,曝光。Imagelab 凝胶成像系统进行拍照,用 IPP 6.0 分析目标条带的积分光密度值(IOD)。

2 结果与分析

2.1 生物信息学预测分析

采用 miRNA 在线靶基因预测软件 Targetscan、miRanda、miRDB,并结合文献调控皮肤毛囊发育的相关通路,预测 miR-1298-5p 的靶基因为 *TGF-β1*,miR-1298-5p 种子区与其靶基因 *TGF-β1* 3'UTR 结合位点如图 1。

2.2 总 RNA 的提取检测与 miR-1298-5p PCR 鉴定

从图 2 电泳结果显示 RNA 分子 28S、18S 和 5S 各条带清晰,通过 Nano-Drop 2000 检测 RNA 样品中 OD_{260}/OD_{280} 均在 2.0 左右,说明总 RNA 的质量较好,能满足后续试验要求;从图 3 中可以看出目的条带和内参 *U₆* 片段小于 100 bp,成功扩增出目的 miRNA 片段。

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type
Position 4146-4152 of TGFBR1 3' UTR	5' ... AAUUUCCAUUGAAGUCGAAUGAU ...	7mer-m8
hsa-miR-1298-5p	3' AUGUAGACCUUGUCGCUUACUU	

图1 miR-1298-5p 种子区与其靶基因 3'UTR

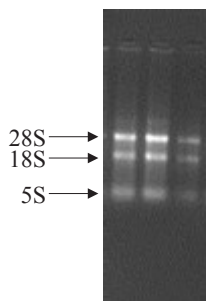
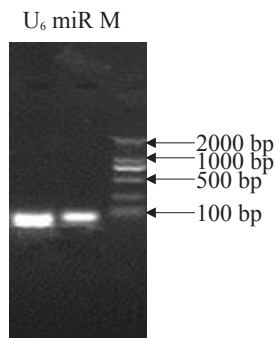


图2 总RNA 琼脂糖凝胶电泳



M为DL 2000 Marker, U_6 为内参; miR为miR-1298-5p

图3 miR-1298-5p PCR扩增产物琼脂糖凝胶电泳

2.3 miR-1298-5p在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期的相对表达

采用SYBR荧光染料法检测在miR-1298-5p在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期的相对表达量,结果表明miR-1298-5p在绒山羊皮肤毛囊发育的生长期到退行期相对表达量上调而退行期到休止期相对表达量下调。miR-1298-5p在细毛羊皮肤毛囊发育生长期和退行期的表达量均高于绒山羊,休止期略低于绒山羊,但表达趋势和绒山羊相似,同样是生长期到退行期表达量上调而退行期到休止期表达量下调。从图4可见,不同品种同一时期miR-1298-5p的表达量不相

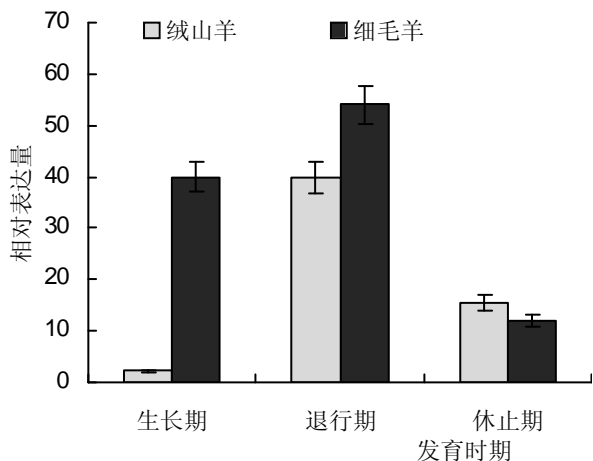


图4 绒山羊和细毛羊 miR-1298-5P 相对表达量

同,且在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期均呈现差异性表达,说明miR-1298-5p与绒山羊和细毛羊毛囊发育存在相关性,miR-1298-5p可能对绒山羊和细毛羊皮肤毛囊周期性发育起到一定的调控作用。

2.4 TGF-β1基因在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期的相对表达

采用SYBR荧光染料法检测TGF-β1基因mRNA在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期的相对表达量,结果(图5)表明TGF-β1在2种羊中均有表达,且绒山羊皮肤毛囊发育生长期相对表达量高于细毛羊,而退行期和休止期相对表达量低于细毛羊。TGF-β1在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期均呈现差异性表达,从表达趋势上看,TGF-β1与miR-1298-5p表达趋势相反,TGF-β1与miR-1298-5p之间在皮肤毛囊发育的过程中呈现负调控趋势,绒山羊这种趋势更明显,进一步说明TGF-β1可能为miR-1298-5p的靶基因。

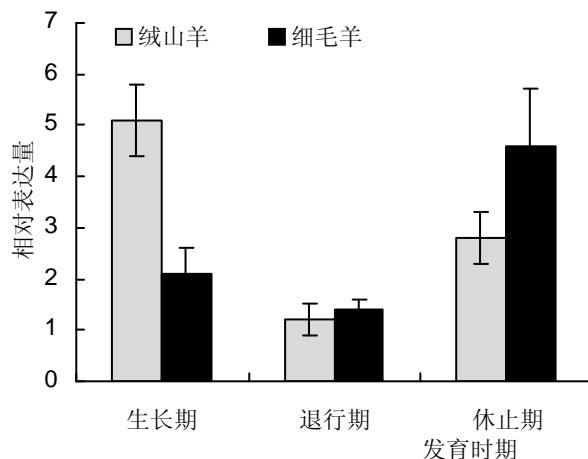


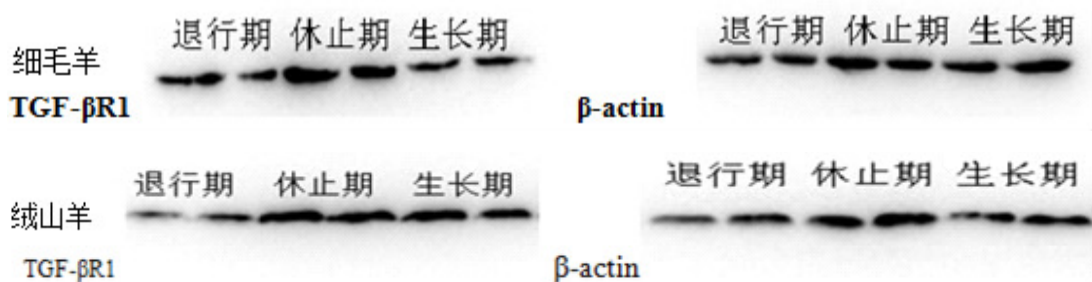
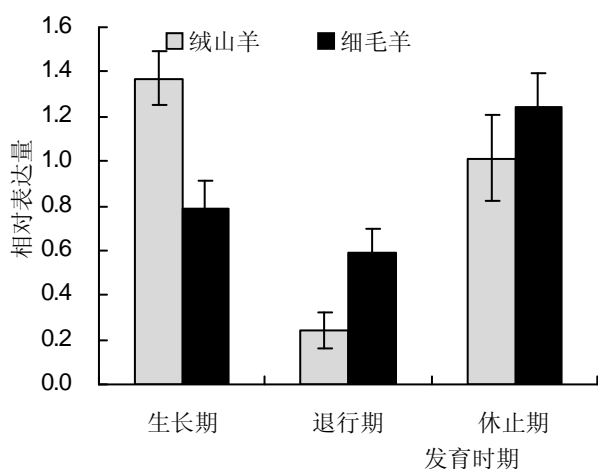
图5 不同品种 TGF-β1 mRNA 相对表达量

2.5 TGFβ1蛋白在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期的相对表达

采用Western Blot检测TGF-β1蛋白在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期的相对表达量,结果(图6)表明TGF-β1在绒山羊皮肤毛囊发育生长期的相对表达量高于细毛羊,而退行期和休止期相对表达量则低于细毛羊。从表达趋势上看,TGF-β1的蛋白相对表达量和核酸相对表达量趋势相同,但都与miR-1298-5p表达趋势相反,更进一步说明TGF-β1可能为miR-1298-5p的靶基因。

3 结论

靶基因预测结果表明TGF-β1 3'UTR存在miR-1298-5p种子区的结合位点,且为7个碱基匹配,从

图6 *TGF-βR1*与 β -actin蛋白条带图7 *TGF-βR1*蛋白相对表达量

生物信息学角度说明 *TGF-βR1* 为 miR-1298-5p 的靶基因;从 *TGF-βR1* 基因 mRNA 与蛋白的相对表达量都与 miR-1298-5p 表达呈负相关,进一步说明 *TGF-βR1* 为 miR-1298-5p 的靶基因,因此初步确定 *TGF-βR1* 为 miR-1298-5p 的靶基因,并且 miR-1298-5p 可能通过调控 *TGF-βR1* 从而对皮肤毛囊发育起到一定作用。

4 讨论

由于 miRNA 主要通过与其靶基因相互结合发挥生物学作用,所以为了研究 miRNA 在羊毛囊发育周期中的调控机制,对其靶基因的预测和鉴定显得尤为重要。因此,本研究首先利用生物信息相关软件 Targetscan、miRanda 和 miRDB 等对 miR-1298-5p 进行靶基因预测及归类,结合相关文献,最终筛选出与毛囊发育周期相关的靶基因 *TGF-βR1*。

TGF-β 信号通路可调控细胞的生长、分化、凋亡、迁移及细胞外基质的形成等多种重要功能,*TGF-βR1* 与 *TGF-βR2* 往往在该通路中能起到重要的作用。*TGF-βR1* 作为 *TGF-β* 信号传导通路中的一个重要的跨膜受体在组织细胞发生发育过程中具有重要的调节作用^[12-14]。James 等^[15]报道了 *TGF-βR1* 通过扰乱 *TGF-β* 信

号传导通路而对皮肤淋巴内皮细胞生成起调节作用。*TGF-β* 对细胞的作用因细胞的种类、细胞周围微环境和细胞自身状态的不同而表现出刺激或抑制效应^[16]。Rojas 等^[17]研究指出 *TGF-βR1* 需要 *TGF-βR2* 的激活才能发挥作用,进而特异性地识别和磷酸化下游 Smad 蛋白分子,因此 *TGF-βR1* 的磷酸化也是其发挥功能作用的关键步骤。*TGF-β1* 是一种多功能生长因子,其 mRNA 在成熟毛囊中表达,且表达具有部位和毛发生长周期的特异性^[18]。

本试验检测了 miR-1298-5p 及其靶基因 *TGF-βR1* 的相对表达量,miR-1298-5p 在绒山羊皮肤毛囊发育的生长期到退行期相对表达量上调而退行期到休止期相对表达量下调,而 miR-1298-5p 在细毛羊皮肤毛囊发育生长期和退行期的相对表达量均高于绒山羊,休止期略低于绒山羊,但表达趋势和绒山羊相似,可见,同一 miRNA 不同品种即使处于同一毛囊发育时期其相对表达量也不同;靶基因 *TGF-βR1* 在两种羊中均有表达,且绒山羊皮肤毛囊发育生长期的核酸及蛋白相对表达量明显高于细毛羊,而退行期和休止期相对表达量低于细毛羊。*TGF-βR1* 在绒山羊和细毛羊皮肤毛囊不同发育时期均呈现差异性表达,且与 miR-1298-5p 的表达趋势相反,因此推测 miR-1298-5p 通过转录后水平调控,干扰靶基因 *TGF-βR1* 的表达来调节绒山羊和细毛羊毛囊周期变化过程,但 miR-1298-5p 具体如何作用于靶基因 *TGF-βR1*,还有待进一步去研究验证。而曲海娥^[19]研究发现 miR-125b 通过负调控靶基因 *FGFR2* 和 *MXD4* 来调控细毛羊和绒山羊皮肤毛囊发育,绒山羊皮肤组织中的 *FGFR2* 和 *MXD4* 无论是核酸水平还是蛋白水平相对表达量均高于细毛羊。Yuan 等^[20]鉴定了绒山羊皮肤毛囊的 399 保守的 miRNAs,其中 36miRNAs 在毛囊发育的 3 个时期都有表达,分别有 23、29 和 44 miRNAs 分别在皮肤毛囊发育的生长期、退行期和休止期呈现特异性表达。

参考文献

- [1] Ma J B, Huang Y. Post-transcriptional regulation of miRNA biogenesis and functional[J].*Front Biol*,2010,5(1):32-40.
- [2] Chekulaeva M, Filipowicz W. Mechanisms of miRNA mediated Post-transcriptional regulation animal cells[J].*Curr Opin Cell Biol*,2009, 21(3):452-460.
- [3] 贾小云,金雷皓,苗激涓,等. miR-663 通过靶向 TGF- β 1 调控羊驼黑色素细胞的黑色素生成[J].*中国农业科学*,2015,48(1):165-173.
- [4] Liu G, Liu R, Li Q, et al. Identification of microRNAs in wool follicles during anagen, catagen, and telogen phases in Tibetan sheep[J].*Plos One*,2013,8(10):377-380.
- [5] 唐晓惠,柳广斌,杜小勇,等. miR-184 及 miR-205 在绵羊不同生长时期毛囊及其他组织中的表达研究[J].*畜牧兽医学报*,2012(12): 1897-1903.
- [6] 樊凯军,尹俊. 绒山羊 70d 胚胎皮肤小分子 RNA 文库构建及 miRNA 鉴定[J].*生物技术*,2014,24(1):32-36.
- [7] 朱芷葳,贺俊平,程志学. microRNAs 在成年羊驼皮肤组织中的表达[J].*畜牧兽医学报*,2010,41(10):1342-1345.
- [8] Sood P, Krek A, Zavolan M, et al. Cell-type-specific signatures of microRNAs on target mRNA expression[J].*Proc Natl Acad Sci USA*,2006,103(8):2746-2751.
- [9] Derynck R, Zhang Y E. Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF- β family signaling[J].*Nature*,2003,425(6958): 577-584.
- [10] 曾东,余文林,杨传红,等. TGF- β 各亚型与其受体在猪皮肤及毛囊中的表达[J].*中国美容医学*,2009,18(5):641-643.
- [11] Gallo E M, Loch D C, Habashi J P, et al. Angiotensin II - dependent TGF- β signaling contributes to Loeys-Dietz syndrome vascular pathogenesis[J].*The journal of Clinical Investigation*,2014, 124(1):448-460.
- [12] Feng X H, Derynck R. Specificity and versatility in TGF- β signaling through Smads[J].*Annual Review of Cell and Developmental Biology*,2005,21:659-693.
- [13] Park S H. Fine tuning and cross-talking of TGF- β signal by inhibitory smads[J].*Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2005,38(1):9-16.
- [14] Lebrin F, Deckers M, Bertolino P, et al. TGF- β receptor function in the endothelium[J].*Cardiovasc Res*,2005,65(3):599-608.
- [15] James J M, Nalbandian A, Mukoyama Y S. TGF β signaling is required for sprouting lymphangiogenesis during lymphatic network development in the skin[J].*Development*,2013,140(18): 3903-3914.
- [16] Zimmerman C M, Padgett R W. Transforming growth factor beta signaling mediators and modulators[J].*Gene*,2000,249(16):17-30.
- [17] Rojas A, Padidam M, Cress D, et al. TGF β receptor levels regulate the specificity of signaling pathway activation and biological effects of TGF β [J].*Biophys Acta*,2009,1793(7):1165-1173.
- [18] Mazzieri R, Jurukovski V, Obata H, et al. Expression of truncated latent TGF- β binding protein modulates TGF- β signaling[J].*Cell Sci*,2005,118(10):2177-2187.
- [19] 曲海娥. MIR-125b 在细毛羊与绒山羊皮肤组织中差异表达及其靶基因的筛选与鉴定[D]. 长春: 吉林大学,2014.
- [20] Yuan C, Wang X L, Geng R Q, et al. Discovery of cashmere goat (*Capra hircus*) microRNAs in skin and hair follicles by Solexa sequencing[J].*BMC Genomics*,2013,14(1):1-10.