

绵羊 *IGF1* 基因表达、多态性与毛用性能相关分析

罗新惠¹,张立春¹,刘艳光^{1,2},柳俭强¹,翟博¹,
曹阳¹,张明新¹,金海国¹

(1.吉林省农业科学院 动物生物技术研究所,吉林 公主岭 136100;2.延边大学 农学院,吉林 延吉 130021)

摘要 为探讨绵羊胰岛素样生长因子1(Insulin-like growth factor 1, *IGF1*)基因与毛用性状的关系,本实验首先通过 RT-PCR(Reverse Transcript Polymerase Chain Reaction)法从新吉细毛羊皮肤组织中克隆出 *IGF1* 基因,并利用 ELISA 和 qRT-PCR(Quantity reverse transcript polymerase chain reaction)法检测比较新吉细毛羊和小尾寒羊外周血和皮肤组织中 *IGF1* 表达差异,再利用 HRM(High-resolution melting)方法检测 *IGF1* 基因在新吉细毛羊、小尾寒羊和陶赛特羊群体中的多态性,最后进行单因素方差分析检验 *IGF1* 不同基因型与新吉细毛羊毛用性状的相关性。结果表明绵羊皮肤组织中表达 *IGF1* 基因,新吉细毛羊外周血和皮肤组织中的 *IGF1* 表达水平略高于小尾寒羊,但差异不显著。PCR 测序结果显示存在 c.110 C>T 和 c.153 T>C 多态性位点,其中 c.110 C>T 引起 a.37 Ala>Val 突变。进一步 HRM 方法结合测序结果显示新吉细毛羊、小尾寒羊和陶赛特绵羊三个群体中 c.153 T>C 存在三种基因型(TT、CT、CC),TT 纯合型在三个群体中频率最低,且在新吉细毛羊群体内呈现出 Hardy-weinberg 极度不平衡状态($p < 0.0001$)。单因素方差分析结果显示 TT 基因型在拉伸长度和产毛量指标方面高于 CC 基因型($p < 0.05$)。绵羊 *IGF1* 基因多态性的发现与毛用性状相关分析将为绵羊毛用性状育种实践奠定基础。

关键词 *IGF1* 基因;多态性;新吉细毛羊绵羊;毛用性能;高分辨率熔解曲线法

中图分类号 Q953

文献标识码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



The *IGF1* Gene Expression, Polymorphism and Correlation with Wool Traits Analysis in Sheep

LUO Xinhui¹, ZHANG Lichun¹, LIU Yanguang^{1,2}, LIU Jianqiang¹,
ZAI Bo¹, CAO Yang¹, ZHANG Mingxin¹, JIN Haiguo¹

(1. Institute of Animal Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Science, Gongzhuling 136100, China;

2. Agricultural College, Yanbian University, Yanji 130021, China)

Abstract To explore the correlation of the *IGF1* gene with wool trait in sheep. In this study, the *IGF1* gene mRNAs were cloned by RT-PCR using skin tissues from Xinji Fine wool sheep as template. The contents of *IGF1* in peripheral blood and skin were measured by ELISA and qRT-PCR respectively. The

收稿日期:2020-06-04

基金项目:国家 863 计划(2013AA102506)资助

通讯作者:张立春,男,汉族,副研究员,研究方向:动物生物技术, E-mail: zhang_lich@163.com。

polymorphism of *IGF1* was tested by HRM among Xinji Fine Wool Sheep, Small-tail Han sheep and Dorset Sheep. In the end, the correlation of genotype with wool traits was analyzed by One-way ANOVA in Xinji Fine Wool Sheep population. The RT-PCR showed *IGF1* was expressed in skin and there were two SNPs (c.110 C>T and c.153 T>C) in the ORF region. And the mutant of c.110 C>T caused a.37 Ala > Val mutant in protein. The ELISA and qRT-PCR data approved that Xinji Fine Wool Sheep had higher level *IGF1* than Small-tail Han sheep in both serum and skin, but the data didn't have statistical significance ($p > 0.05$). The polymorphism test displays the c.110 C>T is fake and three genotypes were constructed by c.153 T>C, and the frequency of TT was smallest in these populations. The Chi-square test showed the frequency of genotypes was in Hardy-Weinberg disequilibrium ($p < 0.0001$), the TT genotype individual has better staple length and wool yield than CC genotype ($p < 0.05$). The identification of SNP on *IGF1* gene and relationship with wool traits in Xinji Fine Wool sheep can provide the theoretical evidence for fine wool sheep breeding.

Key words *IGF1*; polymorphism; Xinji fine wool sheep; wool traits; HRM

胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, *IGF1*) 具有促进细胞增殖、分化以及调节物质代谢等多种生理功能^[1], 参与了畜禽的生长发育、繁殖及产奶等多种表型构成^[2-4], 在动物毛囊发育及毛发生长中也起到重要作用。研究表明 *IGF1* 在绵羊、鼠和人等多种哺乳动物及禽类的皮肤和毛囊中均有表达并有助于毛干的伸长^[5]。毛囊的体外培养实验也证实 *IGF1* 在低剂量时与毛囊发育正相关, 在高剂量时呈现退行期变化^[6]。全身或皮内注射 *IGF1* 均不能促进毛发生长, 由此推断 *IGF1* 的作用方式可能是自分泌或旁分泌^[7]。皮肤组织特异性转 *IGF1* 基因绵羊的净毛量较非转基因半同胞绵羊平均提高 6% 以上, 直接证明了 *IGF1* 可以促进动物毛发的生长, 也证实了其自分泌或旁分泌的作用方式, 转基因绵羊除表现在净毛量增加外, 其他毛用指标如毛直径、毛髓质性和减毛后体重等方面无显著影响^[8], 说明 *IGF1* 对毛发性状影响具有单一性; 研究表明 *IGF1* 还可以通过抑制细胞凋亡和延长毛囊生长期的方式促进毛发生长^[9]。*IGF1* 基因在畜禽中存在丰富的多态性, 由于其影响牛羊生长、繁殖及屠宰等性状^[10-12], 因此 *IGF1* 可作为绵羊毛用性状的标记基因辅助育种。本实验室前期统计数据表明新吉细毛羊和小尾寒羊产毛性状的相关测量值存在显著差异, 本次发现的 *IGF1* 基因在两品种中存在 SNP 位点并表现出显著种间差异, 将为开展 *IGF1* 基因辅助绵羊育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验样品采集

实验样品包括皮肤组织样品、外周血和血清样品, 皮肤组织和血清样品采自 9 月份成年新吉细毛羊 (超细型, 又称苏博美利奴羊毛) 和小尾寒羊各 3 只; 外周血样品来自 126 只新吉细毛羊、24 只小尾寒羊和 26 只陶赛特羊, 血样的采集方法为颈静脉负压采集 5 mL, 肝素钠抗凝, -20°C 保存。新吉细毛羊群体及毛用性状数据指标与文献相同^[13]。

1.2 主要试剂及仪器

绵羊 *IGF1* 激素 ELISA 检测试剂盒购自 CUSABIO 公司; 血基因组 DNA 制备试剂盒购自 Axygen 公司; RNA 提取 Trizol 试剂来自 Invitrogen 公司; cDNA 第一链合成试剂盒及其他常规试剂盒购自宝生物公司; 高保真 pfu DNA 聚合酶购自 Solarbio 公司; 基因分型试剂盒 Light cycler 480 High Resolution Melting Master 购自罗氏公司; 实时荧光定量 PCR 仪为罗氏公司 Light cycler 480 II。

1.3 核酸提取与制备

皮肤组织总 RNA 提取采用 Trizol 法, cDNA 第一链合成反应参照 PrimeScript 反转录试剂盒, 以上各步按相应说明书进行。

血液样品 DNA 提取参照试剂盒说明书进行, 最终稀释成工作浓度 $50\text{ ng}/\mu\text{L}$, -20°C 保存。

1.4 引物设计与合成

以绵羊 *IGF1* 基因参考序列为模板, 用 Oligo7.0 软件设计 *IGF1* 克隆、定量 PCR 及高分辨率熔解曲线

(high resolution melting, HRM)检测引物(表 1),委托苏州金唯智生物科技有限公司合成。

表 1 绵羊 *IGF1* 基因扩增引物和 HRM 引物

引物	序列	产物	退火温度/°C	参考序列
sIGF1-C	F: TTGCCTCATTATTCCTGCTAA R: TAGTTCTTGTTCCTGCACTC	510	60	NM_001009774
sIGF1-q	F: TCATTATTCCTGCTAACCAAT R: CATCTTCACCTGCTTCAA	125	62	NM_001009774
sIGF1-H	F: CAGTCACATCCTCCTCGCATC R: AAATCCACAGAGCAGCGAGA	181	62	NC_040254
β -actin	F: CCGCAAATGCTTCTAGGCGG R: TCGCACGAGCCAATCTCAT	98	62	NM_001009784

1.5 目的片段扩增及序列测定

RT-PCR 反应体系为 50 μ L: 10 \times PCR Buffer(Mg+ plus) 5.0 μ L, pfu DNA 聚合酶(5.0 U/ μ L)0.5 μ L, *IGF1*-C 混合引物(各 10 μ mol/L)0.5 μ L, dNTPs(2.5 mmol/L)5.0 μ L, cDNA 模板(50 ng/ μ L)1.0 μ L, ddH₂O 38 μ L。扩增条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 60 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共计 35 个循环, 循环后 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测、特异性片段胶回收、连接 pMD-18T 载体和转化 DH5 α 感受态细胞, 最后挑取阳性克隆经菌落 PCR 鉴定后送生物公司测序。

1.6 *IGF1* 基因在新吉细毛羊与小尾寒羊血清和皮肤组织中的表达

两品种羊血清 *IGF1* 含量采用 ELISA 方法检测, 具体参照说明书进行; 皮肤组织 *IGF1* 基因表达采用 qRT-PCR 检测, 反应体系为 20 μ L: SYBR Green I master 10 μ L, F/R 引物(各 10 mol/ μ L)各 0.2 μ L, cDNA 模板(50 ng/ μ L)1 μ L, ddH₂O 8.6 μ L。反应条件: 95 °C 预变性 10 min; 95 °C 变性 15 s, 62 °C 退火延伸 30 s, 共 40 个循环。扩增反应结束后进行熔解曲线分析。以上指标两个品种分别检测 3 个个体, 每个体进行 3 次重复, 以 *GAPDH* 为内参, 检测结果利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行数据分析并绘制柱形图, 用独立样本 t 检验方法进行数据统计分析。

1.7 *IGF1* 基因在三个群体中的多态性分析

采用 HRM 方法对新吉细毛羊、小尾寒羊和陶赛特羊三种群体的 *IGF1* 基因进行多态性分析。HRM 反应为 20 μ L 体系: High Resolution Melting Master 10 μ L, MgCl₂ (2.5 mmol/L) 2 μ L, F/R 引物(各 10 μ mol/L)各 0.2 μ L, 模板 DNA(50 ng/ μ L)1 μ L, ddH₂O 6.8 μ L。反应程序如: 首先 95 °C 预变性 10 min; 随后扩增 45 个循环, 包括变性 94 °C 15 s, 退火延伸 62 °C 30 s; 扩增结束后进行 HRM 分型, 条件为 95 °C 变性 1 min, 40 °C 完全退火 1 min, 65 °C 保持 1 s; 从 65 °C 开始持续升温至 95 °C 并按 25 次/s 的速率收集荧光信号; 最后 40 °C 冷却 1 min。利用 Gene Scanning 软件进行结果分析。

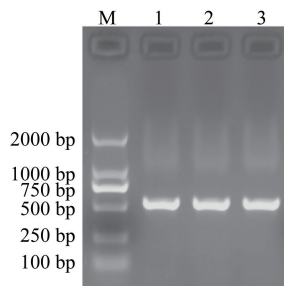
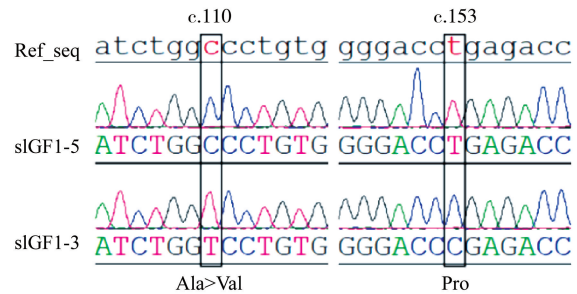
1.8 新吉细毛羊 *IGF1* 基因多态性与毛用性状关联分析

收集 126 只新吉细毛羊的多种毛用性状和 *IGF1* 基因型数据, 利用 IBM SPSS 22 软件及 one-way ANOVA 方法检验 *IGF1* 不同基因型和毛用性状的相关性, 并以 $p < 0.05$ 作为判定标准。

2 实验结果

2.1 绵羊 *IGF1* 基因克隆与多态位点检测

新吉细毛羊皮肤组织 cDNA 的 RT-PCR 结果显示目的片段稍大于 500 bp(图 1), 进一步胶回收克隆测序证实该目的片段为绵羊 *IGF1* 基因的编码区序列, 长度为 510 bp, 由此证明 *IGF1* 基因在绵羊皮肤组织中表达。进一步序列比对发现 sIGF1-3 克隆在 c.110 和 c.153 存在 SNP 位点, 分别为 C>T 和 T>C, 其中 c.110 位 C>T 导致 a.37 位(位于 1-49 位氨基酸蛋白信号肽区域)Ala > Val 突变, Ala 和 Val 在极性和疏水性等方面完全一致; c.153 位 T>C 未引起氨基酸序列改变(图 2)。

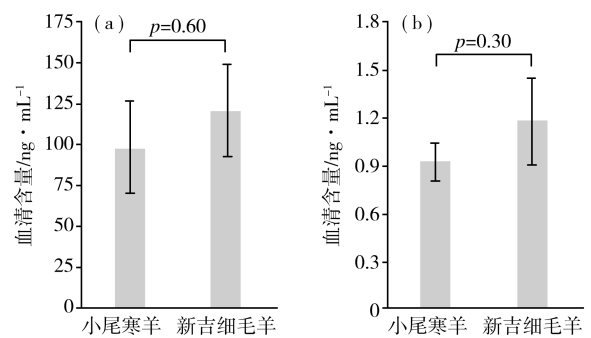
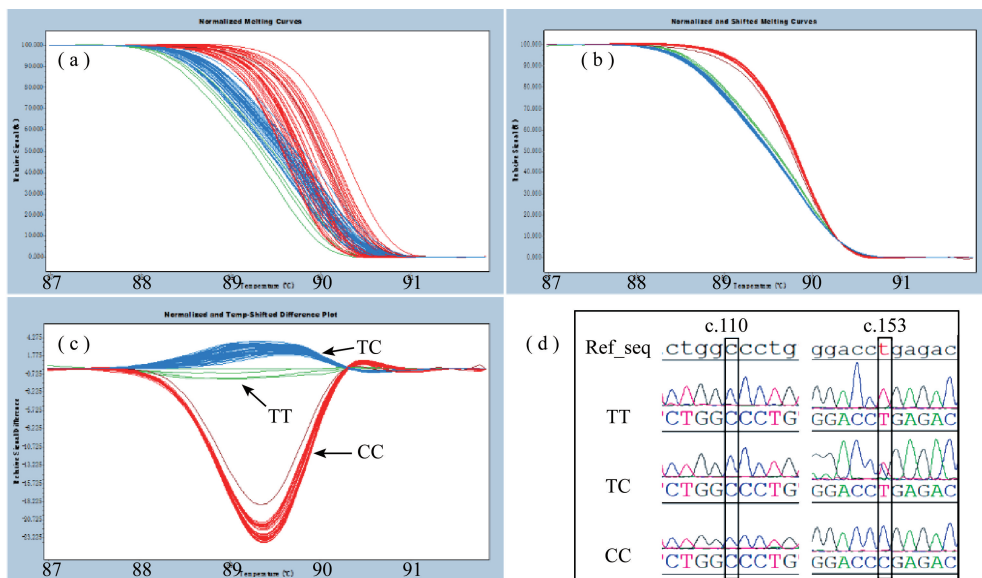
图1 绵羊 *IGF1* 基因 cDNA 产物 RT-PCR 扩增图2 绵羊 *IGF1* 基因 CD 区 SNP 位点鉴定

2.2 *IGF1* 基因在两种羊外周血及皮肤组织中的表达比较

分别检测新吉细毛羊和小尾寒羊(各3只)外周血和皮肤组织的 *IGF1* 基因相对表达含量,ELISA 结果显示新吉细毛羊外周血 *IGF1* 含量约为 125 ng/mL,略高于小尾寒羊的 100 ng/mL(图 3(a)),差异不显著;qRT-PCR 结果显示新吉细毛羊皮肤组织的 *IGF1* 相对表达量略高于小尾寒羊,差异倍数在 0.3 左右,如(图 3(b)),差异不显著。

2.3 不同品种绵羊 *IGF1* 基因多态性分析

针对 *IGF1* 序列比对发现的 2 个 SNP 位点,采用 HRM 法对 SNP 位点进行基因分型,并统计 *IGF1* 在新吉细毛羊、小尾寒羊和陶赛特绵羊中的多态性。PCR 扩增结果经溶解曲线标准化,如图 4(a)和平移处理图 4(b)后得到标准化温度平移差异图,如图 4(c),即 HRM 最终分析结果。图中看出 *IGF1* 相同基因型聚合,不同基因型区分明显,说明 HRM 方法能够准确区分绵羊 *IGF1* 基因型。各基因型 PCR 产物的测序结果显示其中有效的 SNP 位点为 c.153 T>C,共有 TT、TC、CC 三种基因型,如图 4(d),c.110 C>T 可能为稀有突变或 RT-PCR 实验中引入的人为突变,如图 4(d)。

图3 新吉细毛羊和小尾寒羊血清及皮肤组织 *IGF1* 表达比较

注:(a):标准化溶解曲线;(b):标准化平移溶解曲线;(c):标准化温度平移差异图;(d):不同基因型测序峰图。

图4 绵羊 *IGF1* 多态性 HRM 分析结果

c.153 T>C SNP 位点在小尾寒羊群体中 TT 基因型频率 4.17%,CC 基因型频率 50.00%,TC 基因型频率 45.83%;陶赛特羊群体中 TT 基因型频率 11.54%,CC 基因型频率 50%,TC 基因型频率 38.46%;新吉细毛羊群体中 TT 基因型频率 1.59%,CC 基因型频率 30.16%,TC 基因型频率 68.25%;TT 基因型频率在三个品种中最低,新吉细毛羊 1.59%,小尾寒羊 4.17%,陶赛特羊 11.54%(表 2);CC 基因型频率在小尾寒羊

和陶赛特羊中相同,均为 50.00%,而新吉细毛羊只有 30.16%;TC 基因型频率在新吉细毛羊中最高,达到 68.25%,直接导致该品种 T 等位基因频率最高,达到 35.71%(表 2)。该位点 Hardy-weinberg 平衡检测显示陶赛特羊和小尾寒羊 χ^2 和 p 较接近,且 p 值大于 0.05,表明两品种该位点处于 Hardy-weinberg 平衡状态,未受到选择压力;新吉细毛羊 χ^2 值为 29.81, p 值 4.67E-08,远小于 0.001,表明该位点处于 Hardy-weinberg 不平衡状态,受到极强的选择压力。

表 2 不同品种绵羊 *IGF1* 基因型频率分析

品种	数量/只	基因型频率/%			等位基因频率/%		χ^2	p
		CC	TC	TT	C	T		
新吉细毛羊	126	30.16(38)	68.25(86)	1.59(2)	64.29	35.71	29.81	4.67E-08
陶赛特羊	26	50.00(13)	38.46(10)	11.54(3)	69.23	30.77	0.25	0.62
小尾寒羊	24	50.00(12)	45.83(11)	4.17(1)	72.92	27.08	0.61	0.43

2.4 新吉细毛羊 *IGF1* 基因多态性与毛用性状关联分析

采用单因素方差分析方法对新吉细毛羊 *IGF1* 基因与个体羊毛的拉伸长度等毛用性状进行了分析,结果显示在拉伸长度和剪毛量指标方面 TT 基因型个体均高于 CC 基因型和 TC 基因型个体,并与 CC 基因型差异显著($p < 0.05$)(表 3);在纤维直径指标方面 TT 基因型个体具有更大的纤维直径,但各基因型间差异不显著(表 3)。

表 3 新吉细毛羊 *IGF1* 不同基因型与毛用性状相关分析

毛用性状	基因型		
	CC($n=38$)	TC($n=86$)	TT($n=2$)
拉伸长度/mm	102.56 \pm 9.47 ^b	108.84 \pm 3.07 ^a	110.65 \pm 3.85 ^a
纤维直径/ μ m	17.23 \pm 2.43	18.47 \pm 3.53	19.41 \pm 1.19
个体剪毛量/kg	3.84 \pm 0.75 ^b	4.26 \pm 1.05 ^{ab}	4.98 \pm 0.42 ^a

注:同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)。

3 讨论

被毛是皮肤衍生而成的特殊器官,包括毛干和毛根两部分。毛干由死亡的角质细胞构成,毛根位于皮肤并伸入毛囊内,完整的毛囊组织包含汗腺、皮脂腺和立毛肌等附属器官^[14]。绵羊毛用性状育种中,皮肤单位面积毛囊密度和毛囊群中次级毛囊与初级毛囊数量比值(S/P)是两个重要的评价指标,除上述两个指标外,毛长也是毛用品种的选育目标^[15]。毛囊作为毛发的发生器官,它的生理状态决定了毛发的生长状态,有研究发现毛囊组织可表达多种保持自身状态和促进毛发生长的细胞因子^[16],本次检测到绵羊皮肤组织 *IGF1* 基因并发现编码区 SNP 位点,为进一步分析 *IGF1* 基因功能与毛用性状的关系奠定基础。

研究表明 *IGF1* 基因存在复杂的可变剪切(Alternative splicing, AS)方式^[17]。研究表明在绒山羊皮肤组织中存在 *IGF1* 可变剪切异构体^[18],但本次绵羊皮肤组织 *IGF1* 扩增条带特异,并未发现可变剪切现象(图 1),推测绵羊和绒山羊皮肤组织 *IGF1* 的表达模式可能存在差异。绒山羊皮肤组织 *IGF1* 基因可变剪切影响蛋白信号肽区^[18],本研究获得的 *IGF1* 基因编码区的 2 个 SNP 位点,其中一个引起信号肽区氨基酸改变 Ala37Val,但两个氨基酸具有相似的物理性能,目前尚不明确该改变对 *IGF1* 表达分泌或功能的影响,一方面说明 *IGF1* 功能区受到选择压力较大,同时也说明绵羊和绒山羊可能采取相似的方式调节 *IGF1* 基因的表达。新吉细毛羊血清和皮肤组织 *IGF1* 表达水平均高于小尾寒羊,但差异不显著(图 3),*IGF1* 基因在绵羊毛用性状控制中可能不是关键因素。同时本研究个体数量较少(各 3 只),未能按基因型分组,因此尚不能确定品种和基因型对 *IGF1* 基因表达的影响。

本实验通过优化引物设计,采用 HRM 方法检验 SNP 并进行分型,结果表明 HRM 方法能有效区分不同基因型信号,如图 4(c),结合 PCR 产物直接测序可简便鉴定出不同基因型具体突变,如图 4(d)。值得注意的是,CDs 序列分析得到 2 个 SNP 位点(图 2),群体 HRM 仅鉴别到一个 SNP 位点图 4(d),c.110 C>T 位点可能是 RT-PCR 反应导入的人为突变或 RNA 编辑引起的突变。三品种 *IGF1* 基因多态性分析发现陶赛

特羊和小尾寒羊均表现 TT 纯合型最低,CC 纯合型最高,新吉细毛羊则表现 TT 纯合型最低,TC 基因型频率最高,由此导致 T 等位基因频率在三个群体中最高,该结果可能是品种选育过程中人为选择压力造成的,最直接的证据就是该位点卡方检验处于 Hardy-weinberg 极度不平衡状态(表 2)。新吉细毛羊群体中 *IGF1* 基因型与毛用性状关联分析也表明 T 等位基因对毛用性状具有改善作用(表 3),但新吉细毛羊在如此巨大人工选择压力下 TT 纯合型比例很低同样值得深究。

4 结论

本研究成功克隆了绵羊 *IGF1* 基因,在群体检测中发现该基因编码区 SNP 位点 c.153 T>C,分为 TT、TC、CC 三种基因型,三个群体间该位点基因型频率卡方检验均处于 Hardy-weinberg 不平衡状态。新吉细毛羊群体中不同基因型个体在拉伸长度和剪毛量指标方面存在明显差异。绵羊 *IGF1* 基因多态位点的发现与鉴定为绵羊毛用性状标记辅助育种奠定基础。

参 考 文 献

- [1] KINEMAN R D, DEL RIO-MORENO M, SARMENTO-CABRAL A, et al. 40 YEARS of *IGF1*: Understanding the tissue-specific roles of *IGF1/IGF1R* in regulating metabolism using the Cre/loxP system[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2018, 61(1): T187-T198.
- [2] DETTORI M L, PAZZOLA M, PASCHINO P, et al. Association between the GHR, GHRHR, and *IGF1* gene polymorphisms and milk yield and quality traits in Sarda sheep[J]. *Journal of Dairy Science*, 2018, 101(11): 9978-9986.
- [3] MEIRA A N, MONTENEGRO H, COUTINHO L L, et al. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and *IGF* type-1 (*IGF1*) genes associated with carcass traits in Santa Ines sheep[J]. *Animal: An International Journal of Animal Bioscience*, 2019, 13(3): 460-468.
- [4] LI C, SUN D, ZHANG S, et al. Genetic effects of FASN, PPARGC1A, ABCG2 and *IGF1* revealing the association with milk fatty acids in a Chinese Holstein cattle population based on a post genome-wide association study[J]. *BMC Genetics*, 2016, 17: 110.
- [5] SU H Y, HICKFORD J G, BICKERSTAFFE R, et al. Insulin-like growth factor 1 and hair growth[J]. *Dermatology Online Journal*, 1999, 5(2): 1-6.
- [6] PHILPOTT M P, SANDERS D A, KEALEY T. Effects of insulin and insulin-like growth factors on cultured human hair follicles: *IGF-I* at physiologic concentrations is an important regulator of hair follicle growth in vitro[J]. *The Journal of Investigative Dermatology*, 1994, 102(6): 857-861.
- [7] HARRIS P M, MCBRIDE B W, GURNSEY M P, et al. Direct infusion of a variant of insulin-like growth factor-I into the skin of sheep and effects on local blood flow, amino acid utilization and cell replication[J]. *The Journal of Endocrinology*, 1993, 139(3): 463-472.
- [8] DAMAK S, SU H, JAY N P, et al. Improved wool production in transgenic sheep expressing insulin-like growth factor 1[J]. *Bio-Technology (Nature Publishing Company)*, 1996, 14(2): 185-188.
- [9] AHN S Y, PI L Q, HWANG S T, et al. Effect of *IGF-I* on Hair Growth Is Related to the Anti-Apoptotic Effect of *IGF-I* and Up-Regulation of PDGF-A and PDGF-B[J]. *Annals of Dermatology*, 2012, 24(1): 26-31.
- [10] EL-MAGD M A, SALEH A A, NAFEAA A A, et al. Polymorphisms of the *IGF1* gene and their association with growth traits, serum concentration and expression rate of *IGF1* and *IGF1R* in buffalo[J]. *Journal of Zhejiang University (Science B)*, 2017, 18(12): 1064-1074.
- [11] THOMAS N, VENKATACHALAPATHY T, ARAVINDAKSHAN T, et al. Molecular cloning, SNP detection and association analysis of 5' flanking region of the goat *IGF1* gene with prolificacy[J]. *Animal Reproduction Science*, 2016, 167: 8-15.
- [12] BHATTACHARYA T K, CHATTERJEE R N, DUSHYANTH K, et al. Polymorphism and expression of insulin-like growth factor 1 (*IGF1*) gene and its association with growth traits in chicken[J]. *British Poultry Science*, 2015, 56(4): 398-407.
- [13] 张立春, 尹峰, 柳俭强, 等. 绵羊 FGF5 基因 Exon 3 多态性对毛用性状的影响[J]. *中国草食动物科学*, 2018, 38(6): 1-5.
- [14] 金海国. 皮肤组织结构与绵羊育种[J]. *延边农学院学报*, 1993(3): 197-200.
- [15] 李建军, 常娟, 陈晓林, 等. 绵羊毛品质性状的形成[J]. *现代农业科技*, 2018, 21: 227-234.
- [16] ROGERS G E. Biology of the wool follicle: an excursion into a unique tissue interaction system waiting to be re-discovered[J]. *Experimental Dermatology*, 2006, 15(12): 931-949.
- [17] PHILIPPOU A, MARIDAKI M, PNEUMATICOS S, et al. The complexity of the *IGF1* gene splicing, posttranslational modification and bioactivity[J]. *Molecular Medicine (Cambridge, Mass)*, 2014, 20: 202-214.
- [18] BAI W L, YIN R H, YIN R L, et al. *IGF1* mRNA Splicing Variants in Liaoning Cashmere Goat: Identification, Characterization, and Transcriptional Patterns in Skin and Visceral Organs[J]. *Animal Biotechnology*, 2013, 24(2): 81-93.