

# 毛囊发育与毛发生产研究进展

王 宁, 荣恩光, 闫晓红

(东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 毛囊是皮肤的衍生物, 其结构复杂, 由多层独特的细胞构成。毛囊是哺乳动物唯一终生呈周期性生长的器官。毛发是毛囊生长发育的产物, 由死亡的终末分化角质细胞组成。动物毛发是重要的畜产品, 是纺织工业的重要原料。近年来, 毛囊发育和毛发生产的分子遗传学研究进展迅速, 许多调控毛囊形态发生和毛发周期的信号通路以及基因相继被发现和鉴定。这些调控通路及基因的发现和鉴定提高对毛囊发育和毛发生产的了解和认识, 为采用分子辅助育种和转基因育种技术培育优质细毛羊奠定了理论基础。文章综述了毛囊形态发生、毛发周期以及毛干特性的调控等最新研究进展, 并讨论了未来羊毛囊发育研究方向。

**关键词:** 毛囊; 毛发周期; 调控; miRNA; 生物钟基因

中图分类号: S826

文献标志码: A

文章编号: 1005-9369(2012)06-0006-06

**Research progress of hair follicle development and hair production/  
WANG Ning, RONG Enguang, YAN Xiaohong(School of Animal Sciences and Technology, North-east Agricultural University, Harbin 150030, China)**

**Abstract:** Hair follicle is a skin appendage with a complex structure composed of several distinct cell layers. The hair follicle is a unique mammalian organ that undergoes continuous cycling throughout adult life. Hair follicles produce hair shafts or fibers, which is composed of terminally differentially dead keratinocytes. Sheep hair (wool) have great economic value, and sheep are the most common resource for wool textile industry. Recently, much progress has been made in understanding hair follicle development and hair production. Many pathways and genes have been identified that are involved in hair follicle development and hair production. These advances have led to a better understanding of hair follicle development and hair production, and lay a solid foundation for improving the productivity and quality of sheep wool via marker assisted selection and transgenic technologies. This paper summarizes the advances in hair follicle morphogenesis, hair follicle cycle and hair production, and discusses several important directions for future research in the study of sheep hair follicle.

**Key words:** hair follicle; hair cycle; regulation; miRNA; clock gene

毛囊(Hair follicle)是哺乳动物最为独特和复杂的微型器官之一, 是哺乳动物唯一终生呈周期性生长的器官。毛囊具有高度自我更新的能力, 但由于其结构清楚, 数量大且处于体表, 易于接近操作和研究, 因此, 毛囊是研究细胞增殖、分化、凋亡及干细胞等重要生命科学问题的良好模型, 也是系统生物学研究理想模型<sup>[1]</sup>。毛发是毛囊

细胞增殖和分化的产物。毛发具有感觉、调节体温、保护及交流等功能, 毛发是重要的畜产品和纺织工业原料。动物毛发品质和商业价值取决于动物毛囊的结构和特性。因此, 要提高动物毛发的产量和品质, 首先必须研究毛囊的发育生物学, 阐明其发育的分子调控机制, 目前研究对象主要集中于人和小鼠, 而对羊等家畜的毛囊发育生物学研究很

收稿日期: 2012-02-14

基金项目: 转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-160B) 转基因生物新品种培育重大专项(2011ZX08009-002)

作者简介: 王宁(1964-), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为动物遗传育种。E-mail: ningwang2001@yahoo.com

少，对羊的毛囊发育特点和分子调控机制知之不多。

## 1 毛囊结构

毛囊是皮肤衍生物，毛囊组成各部分间结构界限明确。毛囊虽小但结构复杂，由8层独特的细胞群构成<sup>[2]</sup>，分别来源于外胚层和中胚层，在毛囊中的位置、作用及基因表达特性都不同<sup>[1]</sup>。鼠毛囊基因表达谱分析显示，毛囊在毛发周期中有多达6 000个基因的表达发生改变，由此可见毛囊发育过程的复杂程度。成熟的生长期毛囊具有典型的毛囊结构，毛干(Hair shaft)位于毛囊的中央。暴露在皮肤外的毛干就是平时所见的动物毛发，而在皮肤内的毛干称为毛根。毛干由毛小皮(Hair cuticle)、毛皮质(Cortex)和毛髓质(Medulla)三层

构成。毛干被内根鞘(Inner root sheath, IRS)、伴侣层(Companion layer)及外根鞘(Outer root sheath, ORS)所包围和支持。内根鞘是包围毛干的刚性结构，它是毛干生长和分化所必需的。内根鞘分别由三种独特的细胞构成，分为内根鞘鞘小皮(IRS cuticle)、Huxley层和Henle层(见图1，此图彩图见附页1)，其中，内根鞘的鞘小皮与毛干的鞘小皮相接。在内根鞘外是由上皮细胞组成的外根鞘，它相当于上皮的基底层和棘细胞层。外根鞘并不与毛干接触，而是被内根鞘和伴侣层隔开，但可以通过内根鞘或信号通路直接或间接影响毛干的生长发育<sup>[3]</sup>。在毛囊的最外层是由三层不同走向的胶原纤维构成的结缔组织鞘(Connective tissue sheath, CTS)，中间的较厚层存在成纤维细胞，结缔组织鞘将毛囊与真皮隔离开<sup>[4]</sup>。

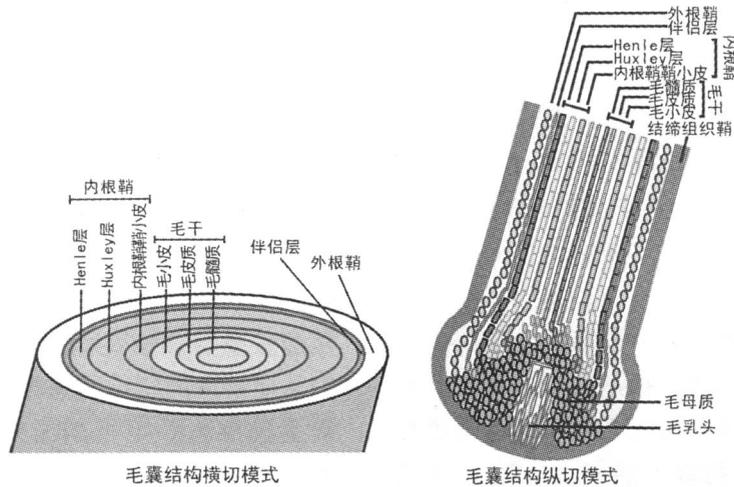


图1 毛囊结构

Fig. 1 Schematic diagram of hair follicle structure

毛球(Hair bulb)是毛囊位于皮肤深处的末端膨大部分，毛球包围着毛乳头(Dermal papilla)，围绕毛乳头的部分为毛母质(Hair matrix)(见图1)。毛母质的角质细胞(Keratinocyte)是体内生长最快的细胞，生长期毛母质细胞增殖分化产生毛干和内根鞘。毛乳头位于毛球中央呈橄榄球形，它由一些密集的真皮细胞组成。毛乳头是毛囊的控制中心，负责信号的发送和接收，控制毛母质细胞增殖和毛干的形成。毛乳头还控制毛球大小、生长期的持续时间及毛干直径。此外，毛乳头通过维持血液循环，为毛发生长提供营养。转录表达谱分析显示，部分毛乳头细胞来源于神经嵴<sup>[4]</sup>。在毛囊分化过程中，毛囊各部分大量表达各种角蛋白，促进毛囊的角质

化，最终毛囊形成坚硬的结构和不同的形态。毛囊细胞间通过桥粒(Desmosome)和角蛋白交联来维持毛囊的完整性。毛囊干细胞和毛乳头细胞在毛发周期中发挥着关键作用，人和鼠的毛囊干细胞位于毛囊外根鞘隆突区(Bulge region)。但是，美利奴羊的毛囊并没有隆突区，其毛囊干细胞定位尚不清楚，这提示羊与人和鼠等的毛囊发育不同<sup>[5]</sup>。毛乳头和毛囊结缔组织鞘均来自间充质的成纤维细胞，故称为间充质毛囊，而毛母质、毛干、内根鞘及外根鞘称为上皮毛囊。

## 2 毛囊的形态发生

胚胎期皮肤上皮细胞和下层真皮细胞通过一系

列相互作用导致毛囊的形成。上皮细胞和真皮细胞通过持续而复杂的相互作用,调控毛囊的形态发生以及后续的毛发周期。一般认为,真皮细胞(间充质细胞)是毛囊发生的诱导者(Inducer),上皮细胞则被认为是应答者(Responder)。真皮细胞发出诱导毛囊形成的第一个信号,上皮细胞接收到来自真皮的信号后,首先变成柱状上皮细胞,上皮变厚,被称为毛囊基板(Placode)。继而,毛囊基板发出信号,诱导真皮细胞迅速以一定模式聚集于毛囊基板下面,真皮细胞聚集的地方就是新毛囊发生的地方,这些聚集的真皮细胞发出信号,诱导毛囊基板细胞增殖,并向下生长,进入真皮,形成初级毛囊胚芽(Primary hair germ, PHG),进一步生长形成毛钉(Hair peg)。随后,毛钉发育呈鳞茎状时,聚集的真皮细胞形成毛乳头,毛乳头被毛囊上皮细胞所包围,形成所谓的毛球。靠近毛乳头的毛母质细胞增殖分化形成毛皮质、毛髓质、毛干鞘小皮以及内根鞘,最终形成毛囊。

毛囊发育始于胚胎期皮肤。美利奴细毛羊胚胎发育至约50 d,皮肤开始形成初级毛囊,约70 d形成初级毛囊。初级毛囊呈三元结构,即一个中央初级毛囊,两个外侧初级毛囊。随后,次级毛囊开始形成。次级毛囊有两种,第一种是由皮肤直接产生的次级毛囊,第二种是由第一种次级毛囊分支产生的次级毛囊。初级毛囊和次级毛囊都具有皮脂腺,但是,初级毛囊具有立毛肌和汗腺,而次级毛囊却没有这些结构。胚胎发育至第85 d,第一种次级毛囊开始出现,在初级毛囊三元结构的一侧生长,构成毛囊群。胚胎发育至105 d时,第二种次级毛囊开始形成<sup>[5-6]</sup>。至羔羊出生时,所有的毛囊都已形成,且初级毛囊已成熟,但是,次级毛囊还没有成熟,尚未长出毛发。在羔羊出生后,次级毛囊成熟还需4~5个月。伴随年龄增大,毛囊数量增加,毛囊密度变大,初级毛囊的三元结构分布特征也就不明显了,到成年羊,这一特征就不存在了。美利奴羊毛主要是次级毛囊产生的,其次级毛囊与初级毛囊数量之比(S/P)达20:1,而一般品种羊的S/P大约为5:1。动物毛囊数量受遗传调控,羊品种间的初级毛囊数量差异不大,主要是次级毛囊数量差别大。美利奴羊的另一个独特之处是毛囊密度高,每平方

毫米达到60个,个体毛囊总数达到 $10^7\sim 10^8$ 个,而人的毛囊数仅为500万个。

### 3 毛发周期

毛囊发育成熟后,毛囊开始终生周期性生长,即进入毛发周期。毛囊生长的周期性表现在毛囊形态和毛囊基因表达随时间呈周期变化。毛囊形态的变化主要发生于毛囊结构的下2/3部分,而毛囊结构的上1/3部分的形态并没有明显变化。在每一个毛发周期中,新的毛干形成,而老的毛干最终脱落。毛发周期一般包括生长期(Anagen)、退行期(Catagen)及静止期(Telogen)三个时期。

生长期:是毛囊的生长活跃期,是毛干的生长期,毛囊在生长期长出完整的毛干。生长期开始的标志是靠近毛乳头的次级毛芽(Secondary hair germ)细胞增殖,毛囊深入到皮下组织。毛球和毛乳头表现为变大,毛球细胞快速增殖,毛干和内根鞘细胞分化<sup>[7]</sup>。生长期的持续时间决定毛干的长度。除此之外,毛母质细胞的增殖和分化也决定着毛干的长度。对于有色毛发来说,黑色素合成只发生于毛囊生长期,毛球部的黑色素细胞合成黑色素颗粒,转运到毛干皮质细胞。黑色素颗粒的多少、颗粒性状以及分布决定毛发的颜色。生长期结束的特征是黑色素细胞树突收缩,黑色素生成停止。生长期结束之后,毛囊进入退行期。

退行期:退行期的特征是毛干生长停止,细胞的增殖和分化下降,细胞出现凋亡,毛囊快速退化。细胞凋亡发生于毛母质和外根鞘的上皮细胞。真皮乳头由于存在抗凋亡蛋白BCL-2,因此,毛乳头细胞并不发生细胞凋亡。该阶段,毛囊萎缩,毛乳头表现浓缩,并向上移动到毛囊外根鞘的隆起部(Bulge)旁,并停止活动。

静止期:退行期之后,毛囊进入静止期,毛干脱落。与其他阶段相比,静止期的毛囊细胞增殖及生化活动处于极低水平。尽管称其为静止期,但事实上,毛囊在这个阶段并不是静止的,一些重要调控因子开始出现,且显著上升<sup>[8]</sup>。静止期是毛发周期的重要阶段,该阶段毛囊接收毛囊内外的信号,决定毛囊进入下一轮生长期。

不同动物、不同部位的毛发周期不同。人体各部位的毛发周期差异很大，鼠背部的毛发周期大约为 20 d，其最初两轮毛发周期是完全是同步的，之后毛发周期不再同步。鼠的毛囊从生长期、退行期到静止期的分布在体表呈波浪样，但人和羊的毛囊没有鼠这种波浪样生长模式，人和羊各个毛囊的周期是独立的，不受邻近毛囊的影响。同种动物不同品种的毛发周期也不完全相同，美利奴细毛羊的毛囊主要处在生长期，几乎不存在毛发周期，美利奴细毛羊的毛囊生长期估计至少在 2 年以上<sup>[6]</sup>，而其他一些品种的羊，如绒山羊，毛发生长期仅为 6 个月或更短<sup>[6]</sup>；或如威尔特郡羊(Wiltshire)，有明显的毛发周期，会自动脱毛，其毛发周期随季节变化<sup>[5]</sup>。另外，相同品种不同个体之间的毛发周期也有差异，这主要是年龄和营养等因素造成的。

## 4 毛囊形态发生和毛发周期的调控

### 4.1 信号通路

上皮细胞和真皮细胞(间充质细胞)间的交互(Epithelial-mesenchymal interaction)在毛囊形态发生和毛发周期中发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。毛囊形态发生和随后的毛发周期两者间关系密切，毛囊的形态发生以及毛发周期的维持都受到多种信号通路调控，而且两者的调控信号通路也相似<sup>[8]</sup>。目前，已发现多个信号通路参与毛囊的形态发生和毛发周期的调控，这些通路包括 Wnt 信号通路、FGF 信号通路、Eda-A1/edar/Edaradd 信号通路、BMP/TGF $\beta$  信号通路、HGF 信号通路、Notch 信号通路、Shh 信号通路等。其中 Wnt 信号通路、Shh 信号通路及 Eda-A1/edar/Edaradd 信号通路是毛囊形态发生所必需的。这些信号通路的配体、受体、中间的信号分子、下游的转录因子及其靶基因等的遗传突变、表观遗传修饰以及蛋白翻译后修饰的改变等都影响动物毛囊发育，导致毛发的生长和毛发品质改变。

信号通路的激活时间、信号强弱和持续时间等的精确调控对于毛囊形态发生和毛发周期的维持至关重要。多聚泛素化(Polyubiquitination)是一种蛋白翻译后修饰形式，主要参与蛋白酶体介导的蛋白降解途径。另外，多聚泛素化还可通过调控蛋白质间的交互，改变转录因子的活性以及转

录辅助因子的细胞内定位。近年来的研究表明，多聚泛素化在协调毛囊形态发生和毛囊发育过程中各个信号通路中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。毛囊发育过程中多聚泛素化通过调控  $\beta$ -catenin、Smad、Notch1、Gli1、Gli2、Gli3、TRAF2/6 等信号传递分子，从而调控 Wnt、Shh、TGF/BMP、Notch、Eda-A1/edar/Edaradd 等信号通路，协调各个通路的活性，保证毛囊发育和毛发周期正常进行<sup>[9]</sup>。除了上述信号通路之外，最新研究发现，生物钟基因和 miRNA 也在毛囊形态发生和毛发周期调控中发挥重要作用。

### 4.2 生物钟基因

生物钟基因(Clock gene)是控制生物昼夜节律的基因。目前已知的哺乳动物的生物钟基因包括：Period 基因(mPer1, mPer2, mPer3)、Cryptochrome 基因(cry1, cry2)、Clock 基因、Bmal1 基因、CKI $\epsilon$  基因、Rev-Erb $\alpha$  基因。生物钟基因在分子水平构成生物钟，使得生物体的细胞分裂、免疫及内分泌等各项生命活动呈现周期性、有序性和协同性。近年，鼠的毛发周期时序基因表达谱分析等发现，生物钟所调控基因的表达与毛发周期相关联，这类基因的表达随毛发周期呈周期性变化。生物钟的靶基因主要在静止期和生长期早期毛囊的次级毛芽(Secondary hair germ, SHG)表达<sup>[10-11]</sup>。生物钟基因 Clock 和 Bmal1 基因敲除小鼠都表现毛囊生长期滞后，次级毛芽细胞的磷酸化程度下降，有丝分裂细胞缺乏<sup>[11]</sup>。这些研究结果表明，生物钟基因不仅调控昼夜节律变化，还能调控毛发周期这类非昼夜变化的节律。

### 4.3 miRNA

miRNA 是新发现的一类重要的毛囊形态发生和毛发周期调控因子<sup>[12]</sup>。miRNA 是一类长度约为 22 nt 的非编码 RNA，是一类重要的转录后调控因子，它通过与靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区(3'UTR) 互补或部分互补结合，使 mRNA 降解或翻译抑制，从而抑制基因表达。miRNA 在多种器官的发育和细胞活动中发挥关键作用。miRNA 表达谱分析发现，上皮和毛囊中表达的 miRNA 种类不同。为了解 miRNA 在皮肤和毛囊发育中的作用，Yi 等采用条件性敲除 miRNA 形成所需的酶基因(Dicer 基因)，使胚胎上皮前体细胞不能形成成熟的 miRNA。结果发现，Dicer 基因敲除鼠表现出

明显的毛囊形态异常,毛芽(Hair germ)不向真皮生长,反而向表皮生长,形成毛芽样囊肿<sup>[13]</sup>。And1等采用同样方法发现,敲除鼠的毛囊发育受阻,毛囊细胞增殖力降低,毛囊增殖有关的信号分子Shh和Notch1在出生后第7天消失,突变鼠毛囊形态异常,不能产生正常毛发<sup>[14]</sup>。最新的研究发现,miR-31通过直接调控Fgf10、Wnt信号通路和BMP信号通路基因(Krt16、Krt17、Dlx3等基因)的表达,从而调控毛发周期和毛发生产<sup>[15]</sup>。miR-21是BMP信号通路的调节因子,miR-21负调控BMP信号通路的靶基因(BMP依赖的肿瘤抑制基因Pten、Pcd4、Timp3和Tpm1)。miR-21在原代角质细胞(Primary keratinocytes)和人类永生化角质细胞系(HaCaT cells)中能解除BMP对细胞增殖和移动的抑制作用<sup>[16]</sup>。另外,有研究还发现,一些miRNA参与影响皮肤的自身免疫疾病和慢性炎症<sup>[12, 17-18]</sup>。这些研究结果表明,miRNA在毛囊和皮肤发育中发挥重要作用。

## 5 毛发特性的分子调控

毛干由毛小皮、毛皮质和毛髓质构成。毛髓质被毛皮质包围,不同物种动物毛干髓质区差异很大。鼠的毛干髓质区存在含有空气的腔体,而人的毛发髓质并没有这样含有空气的空腔。同一种动物不同品种的毛髓质也可不同,如许多品种羊的毛干有很大髓质区,但是美利奴细毛羊的毛干并没有毛髓质。毛是毛囊的产物,毛囊的形状和大小决定着毛的品质,凡影响毛发周期的信号通路或基因都会间接影响毛发生长和毛发的结构及性质。有些毛发周期调控信号通路,例如Notch信号、BMP信号及Wnt信号通路可直接调控毛干皮质和毛小皮的形成等<sup>[6]</sup>。不同物种/品种动物的毛发长度、细度、形状等特性不同,形成这些差异的分子机制尚不清楚<sup>[19]</sup>。

### 5.1 毛发长度和细度

毛的长度和细度是不同物种/品种动物的毛发特征之一,也是动物不同类型毛发的特征。野生型和转基因鼠的研究发现,毛囊的大小与毛的长度和细度相关,毛囊越大,毛发的长度和直径也越大。毛发周期、毛囊前体细胞的数量及其增殖率、细胞的形状都影响毛的长度和细度<sup>[3]</sup>。毛囊生长期越长,毛发也就越长。转基因鼠和基因敲除

鼠研究表明,毛囊细胞的增殖率对毛的长度和细度影响最大,毛长度和细度的改变主要是由于毛囊细胞增殖率改变而造成的。桥粒斑珠蛋白(Plakoglobin PKG)的转基因鼠能降低毛囊细胞增长率,导致毛发显著变短。FGFR2-IIIb receptor的敲除鼠和显性突变体转基因鼠同样可以降低毛囊细胞增长率,导致毛发更细。IGF-I和其结合蛋白IGFBP3、IGFBP5对毛发的长度和细度作用相反,IGF-I转基因鼠表现毛发变长,而IGFBP3、IGFBP5转基因鼠则表现毛发细度和长度下降。目前,已知Wnt信号通路与毛长有关,Wnt3和Dvl2转基因鼠都表现毛长变短。另外,Foxe1基因敲除会导致毛干髓质细胞数量下降,毛发变细。

### 5.2 毛发外形

不同物种/品种动物的毛发不仅毛发长度和细度有差异,其毛发外形也不相同,即使同一动物,不同部位的毛发外形也不完全相同。毛发形态的差异是由于毛发弯曲造成的。毛发的刚性对维持毛发形状很重要,许多基因的突变可导致毛发易折而脱落。桥粒是上皮细胞连接的重要结构,对于毛发及毛囊的结构具有重要作用。桥粒结构蛋白影响毛囊形态发生及毛发外形。桥粒由两类蛋白质构成,跨膜蛋白和胞浆内的桥粒斑蛋白。跨膜蛋白包括桥粒芯蛋白(DSG)和桥粒糖蛋白(DSC),两者都由多个成员组成,这些蛋白基因在人和鼠的染色体上都成簇存在。DSG4主要在毛干皮质中高表达,其表达受LEF1、HOXC13、FOXN1、SMAD4调控。DSG4突变导致人的局部毛发稀少,毛发易折断。敲除SMAD4基因会导致DSG4表达下降,毛囊出现变性,毛干的分化和粘连缺陷,与DSG4突变的表型相似<sup>[20]</sup>。胞浆内的桥粒斑(Desmosomal plaque)蛋白包括桥粒斑蛋白(Desmoplakin, DSP)、桥粒斑珠蛋白(Plakoglobin, PKG)以及斑菲素蛋白(Plakophilin, PKP)。PKP、PKG及DSP突变同样会都导致毛发稀少、变短、皮肤和毛发异常<sup>[2]</sup>。

角蛋白是毛囊的主要蛋白成分,角蛋白可以分为I型角蛋白(酸性)和II型角蛋白(中性到碱性)。I型角蛋白和II型角蛋白以异源二聚体形式在胞浆中形成角蛋白中间丝(Keratin intermediate filaments, KIF),构成细胞骨架的一部分。角蛋白还可以进一步分为上皮角蛋白(软)和毛发角蛋白

(硬)。上皮角蛋白主要在各种上皮细胞中表达，而毛发角蛋白则只在高度角质化的组织，例如，毛干和指甲等中表达。两种角蛋白相比，毛发角蛋白的含硫量高于上皮角蛋白。毛发角蛋白由于富含硫，因此，它在与角蛋白相关蛋白的交联中发挥重要作用。人有17个毛发角蛋白基因(11个I型角蛋白和6个II型角蛋白)，除了一个角蛋白基因外，其他均在毛干中高表达。毛发正常刚性和伸缩性的关键在于毛干的正常角质化，保证充足和平衡的角蛋白合成。缺乏任意一种角蛋白，都会导致毛发结构和形态的异常。调控角质细胞分化的转录因子如HOXC13、FOXP1、MSX2的突变也会造成毛发稀少、毛发卷曲、毛干易折断等表型变化。上皮角蛋白主要在毛囊外根鞘、内根鞘、毛干髓腔等处存在，上皮角蛋白基因的突变同样也可引起动物毛发卷曲<sup>[21]</sup>。

毛囊形态发生和毛发周期的调控通路在毛发形态形成中发挥重要作用。多个品系鼠的研究表明，Eda-A1/edar/Edaradd信号通路的激活在毛发卷曲的形成中发挥至关重要的作用。Eda-A1、Edar和Edaradd的突变都会导致毛发卷曲性状丧失，该信号通路下游信号分子和靶基因突变或缺失也都会导致卷曲性状减弱<sup>[3]</sup>。

## 6 展 望

羊毛的品质是影响细毛羊生产经济效益的重要因素。羊毛的品质性状包括羊毛细度、长度及卷曲度等。改良和提高细毛羊羊毛的产量和品质，对增加细毛羊业的经济效益和社会效益，促进畜牧业及毛纺业快速、稳健发展具有重要意义。小鼠等动物的毛囊发育生物学研究促进了人类对毛囊发育的深入了解。目前，毛囊发生和毛发周期分子调控机制具有保守性，但不同物种和不同品种动物的毛囊具有物种和品种特异性，小鼠和人的毛囊研究结果并不能完全适用于羊等其他动物。分子辅助选育和转基因育种是培育高品质细毛羊的重要手段，美利奴细毛羊是一个优质细毛羊品种，分析美利奴细毛羊毛囊形态发生和毛发周期的分子调控机制，揭示美利奴羊毛囊生长期长、次级毛囊数量大、初级和次级毛囊差异小的遗传学基础，对于培养优质细毛羊新品种具有重要意义。可采用转录组学、蛋白组学及

系统生物学等方法，揭示美利奴羊毛囊发育和毛发周期的分子调控机制，筛选出控制羊生长性状及羊毛品质性状的重要基因、重要基因型和调控元件，采用体内和体外实验验证其功能，获得具有育种价值的基因。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Al-Nuaimi Y, Baier G, Watson R E, et al. The cycling hair follicle as an ideal systems biology research model[J]. *Exp Dermatol*, 2010, 19(8): 707-713.
- [ 2 ] Shimomura Y, Christiano A M. Biology and genetics of hair[J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2010(11): 109-132.
- [ 3 ] Schlake T. Determination of hair structure and shape[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2007, 18(2): 267-273.
- [ 4 ] Yang C C, Cotsarelis G. Review of hair follicle dermal cells[J]. *J Dermatol Sci*, 2010, 57(1): 2-11.
- [ 5 ] Rogers G E. Biology of the wool follicle: An excursion into a unique tissue interaction system waiting to be rediscovered[J]. *Exp Dermatol*, 2006, 15(12): 931-949.
- [ 6 ] Galbraith H. Fundamental hair follicle biology and fine fibre production in animals[J]. *Animal*, 2010, 4(9): 1490-1509.
- [ 7 ] Alonso L, Fuchs E. The hair cycle[J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(3): 391-393.
- [ 8 ] Schneider M R, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan[J]. *Curr Biol*, 2009, 19(3): R132-R142.
- [ 9 ] Huntzicker E G, Oro A E. Controlling hair follicle signaling pathways through polyubiquitination[J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(5): 1081-1087.
- [ 10 ] Geyfman M, Andersen B. Clock genes, hair growth and aging[J]. *Aging (Albany NY)*, 2010, 2(3): 122-128.
- [ 11 ] Lin K K, Kumar V, Geyfman M, et al. Circadian clock genes contribute to the regulation of hair follicle cycling[J]. *PLoS Genet*, 2009, 5(7): e1000573.
- [ 12 ] Sand M, Gambichler T, Sand D, et al. MicroRNAs and the skin: tiny players in the body's largest organ[J]. *J Dermatol Sci*, 2009, 53(3): 169-175.
- [ 13 ] Yi R, O'Carroll D, Pasolli H A, et al. Morphogenesis in skin is governed by discrete sets of differentially expressed microRNAs [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(3): 356-362.
- [ 14 ] Andl T, Murchison E P, Liu F, et al. The miRNA-processing enzyme dicer is essential for the morphogenesis and maintenance

# 猪氨基肽酶在昆虫细胞的分段表达及鉴定

单智夫, 唐丽杰, 乔薪媛, 葛俊伟, 李一经\*

(东北农业大学动物医学学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 为研究猪的氨基肽酶(Porcine aminopeptidase, pAPN)的特异性功能区域及作用机制, 将除去信号肽的pAPN分为SPA, SPB和SPC三段, 利用一对同尾酶 *Xho*I 和 *Sal*I 将信号肽分别与SPA, SPB和SPC相连接后再构建到杆状病毒表达载体 pFastBacTM1 上, 通过杆状病毒-昆虫细胞表达体系进行蛋白表达。结果表明, 经SDS-PAGE分析可见获得的目的蛋白与预期大小相一致, 即SPA约为42 ku, SPB和SPC相同, 约为56 ku的分泌蛋白; 经western-blot鉴定三段蛋白均可与天然的pAPN抗血清特异性结合, 表明已经成功获得SPA, SPB和SPC三段蛋白, 可为进一步研究pAPN特异性功能区域奠定基础。

**关键词:** pAPN分段, 杆状病毒-昆虫细胞表达体系, 表达与鉴定

中图分类号: S852.65

文献标志码: A

文章编号: 1005-9369(2012)09-0012-05

**Expression and identification of the subsection from pAPN in insect cells expression systems/SHAN Zhifu, TANG Lijie, QIAO Xinyuan, GE Junwei, LI Yijing(School of Veterinary Medicine, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)**

**Abstract:** To investigate which part of porcine aminopeptidase (pAPN) is the functional domain of receptor for PEDV, we removed the signal peptide and divided pAPN into three sections: SPA, SPB and SPC. Then we use a pair of isocaudarner *Xho*I and *Sal*I to connect the signal peptide and SPA, SPB and SPC respectively and connected to pFastBacTM1 finally. We express the SPA, SPB and SPC by Bac-to-Bac baculovirus expression systems and get the secreted protein 42, 56 ku as we expected by SDS-PAGE. The result of western blot shows that

收稿日期: 2012-02-17

基金项目: 国家自然科学基金(30671574)

作者简介: 单智夫(1985-), 女, 博士研究生, 研究方向为分子病毒学。E-mail: szf1114@yahoo. com. cn

\*通讯作者: 李一经, 教授, 博士生导师, 研究方向为微生物与免疫学。E-mail: yijingli@163. com

- of hair follicles[J]. *Curr Biol*, 2006, 16(10): 1041-1049.
- [15] Mardaryev A N, Ahmed M I, Vlahov N V, et al. Micro-RNA-31 controls hair cycle-associated changes in gene expression programs of the skin and hair follicle[J]. *Faseb J*, 2010, 24(10): 3869-3881.
- [16] Ahmed M I, Mardaryev A N, Lewis C J, et al. MicroRNA-21 is an important downstream component of BMP signalling in epidermal keratinocytes[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(20): 3399-3404.
- [17] Bostjancic E, Glavac D. Importance of microRNAs in skin morphogenesis and diseases[J]. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*, 2008, 17(3): 95-102.
- [18] Goodarzi H R, Abbasi A, Saffari M, et al. Differential expression analysis of balding and non-balding dermal papilla microRNAs in male pattern baldness with mRAP method[J]. *Br J Dermatol*, 2012, 166(5): 1010.
- [19] Millar S E. Molecular mechanisms regulating hair follicle development[J]. *J Invest Dermatol*, 2002, 118(2): 216-225.
- [20] Owens P, Bazzi H, Engelking E, et al. Smad4-dependent desmoglein-4 expression contributes to hair follicle integrity[J]. *Dev Biol*, 2008, 322(1): 156-166.
- [21] Mclean W H, Moore C B. Keratin disorders: from gene to therapy [J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(2): 189-197.
- [22] 荣恩光, 王志鹏, 张志威, 等. 中国美利奴羊 DLX3 基因 3'UTR 的多态性及其与羊毛品质性状的关联分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2012, 43(3): 358-367.

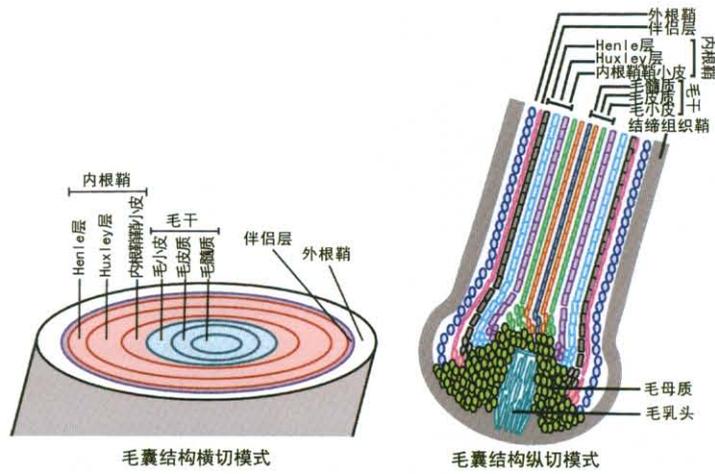
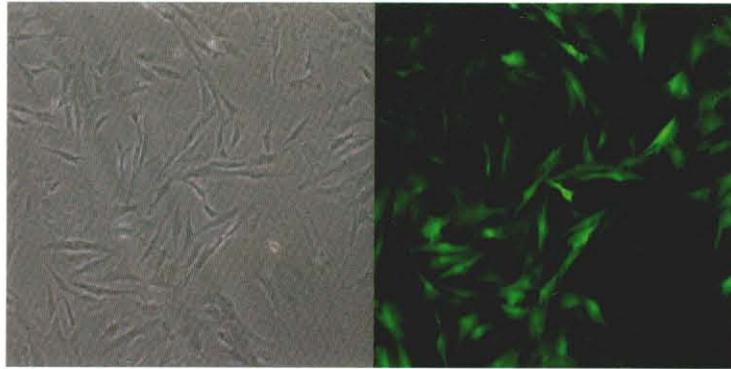


图1 毛囊结构模式

Fig. 1 Schematic diagram of hair follicle structure

王 宁等: 毛囊发育与毛发生产研究进展. 2012, 43(9): 6-11.

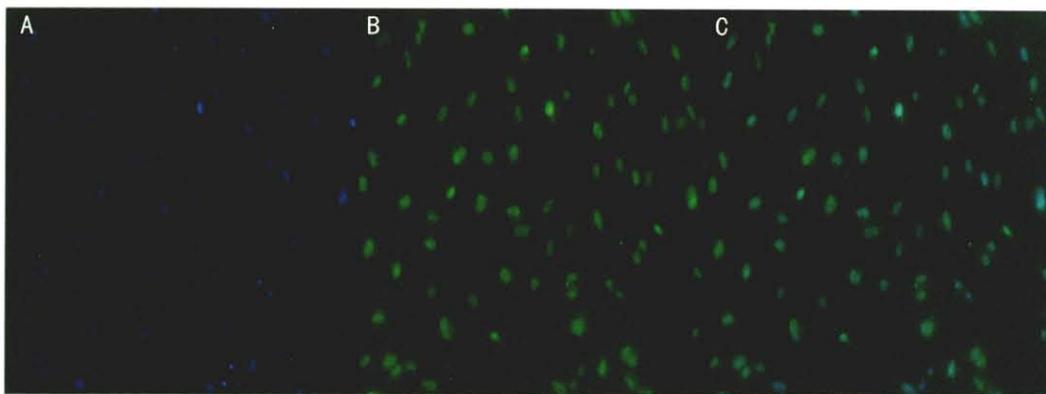


左图和右图分别是EGFP逆转录病毒感染PEF细胞72h后的光镜图和荧光镜图

The left and right are light micrographs and fluorescence micrographs of EGFP retroviral infection PEF cells 72h

图4 EGFP在PEF细胞中的表达情况

Fig. 4 Expression of EGFP in PEF cells



A-Hoechst核染; B-Lin28染色; C=A、B的合成图

A-hoechst; B-anti-lin28; C-100×; C-merged figure of A and B.

图5 过表达Lin28基因的PEF细胞中Lin28蛋白的表达情况(100 ×)

Fig. 5 Infection in lin28 pMXs-lin28 PEF cell lines identified by immunofluorescence

刘忠华等: 猪源Lin28基因的克隆及其在猪胎儿成纤维细胞中的表达. 2012, 43(9): 26-31.