

# 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 的分子特征分析

白文林<sup>1,2</sup>, 马 芳<sup>3</sup>, 尹荣焕<sup>2</sup>, 曹 亮<sup>4</sup>, 罗光彬<sup>2</sup>, 尹荣兰<sup>1</sup>,  
刘 畅<sup>1</sup>, 姜午旗<sup>2</sup>, 赵志辉<sup>1</sup>

(1 吉林大学 畜牧兽医学院, 吉林 长春 130062; 2 沈阳农业大学 畜牧兽医学院, 辽宁 沈阳 110161;

3 辽宁省喀左县草原站, 辽宁 喀左 122303; 4 黑龙江省农垦总局 畜牧局, 黑龙江 哈尔滨 150036)

【摘 要】 【目的】克隆内蒙古绒山羊 SRY 基因的 HMG-box 区, 并对其序列特征进行分析。【方法】参考 GenBank 中山羊 SRY 基因序列设计 1 对引物, 采用 PCR 法扩增内蒙古绒山羊雄性个体的 SRY 基因 HMG-box 区全部序列, 克隆到 pMD18-T 载体中, 转化 DH5 $\alpha$  菌, 蓝白斑筛选阳性克隆, 并进行测序。将测序结果与 GenBank 中部分偶蹄目动物 SRY 基因 HMG-box 的序列进行同源性比较, 构建系统进化树。【结果】内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 长度为 231 bp, 编码 77 个氨基酸; 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 与 GenBank 中山羊、绵羊、猪、麝香鹿、梅花鹿、牛、水牛和牦牛等偶蹄目动物的核苷酸同源性分别为 100.0%, 99.1%, 86.1%, 96.1%, 96.1%, 97.4%, 95.6% 和 96.9%, 推导的氨基酸序列同源性分别为 100.0%, 100.0%, 83.1%, 94.8%, 94.8%, 94.8%, 92.2% 和 93.5%。基于 SRY 基因 HMG-box 核苷酸序列构建的物种间系统进化结果, 基本上与这些偶蹄目动物传统的系统分类结果一致。【结论】SRY 基因 HMG-box 区在物种进化中高度保守, 有望作为构建系统发育树的候选基因。

【关键词】 内蒙古绒山羊; SRY 基因; HMG-box; 序列分析

【中图分类号】 S827

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)07-0044-07

## Molecular characterization of SRY gene HMG-box region in Inner Mongolia cashmere goat

BAI Wen-lin<sup>1,2</sup>, MA Fang<sup>3</sup>, YIN Rong-huan<sup>2</sup>, CAO Liang<sup>4</sup>, LUO Guang-bin<sup>2</sup>,  
YIN Rong-lan<sup>1</sup>, LIU Chang<sup>1</sup>, JIANG Wu-qi<sup>2</sup>, ZHAO Zhi-hui<sup>1</sup>

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun, Jilin 130062, China; 2 College of Animal

Science and Veterinary Medicine, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China; 3 Grassland Station

of Kazuo County of Liaoning Province, Kazuo, Liaoning 122303, China; 4 Animal Science Bureau, Land

Reclamation General Bureau of Heilongjiang Province, Haerbin, Heilongjiang 150036, China)

**Abstract:** 【Objective】 This study aim to clone HMG-box of SRY gene in Inner Mongolia cashmere goat, and analyzed its sequence characteristics. 【Method】 From male Inner Mongolia cashmere goat genomic DNA, the fragment of SRY gene containing entire HMG-box region was amplified by PCR with a pair of designed primers based on the sequence of goat SRY gene sequence from GenBank. The amplified fragment was cloned to the pMD18-T vector, and transformed to the bacterium DH5 $\alpha$ . The identified positive clone with amplified fragment was sequenced. The sequences homology of SRY gene HMG-box region of some artiodactylas from GenBank was compared with the Inner Mongolia cashmere goat, and based on the sequences of HMG-box region, the phylogenetic tree was constructed by UPGMA method. 【Result】 The

\* 【收稿日期】 2008-08-30

【基金项目】 辽宁省教育厅科学研究基金计划项目(2005358)

【作者简介】 白文林(1974—), 男, 甘肃永靖人, 副教授, 博士, 主要从事分子遗传与动物育种研究。

E-mail: baiwenling2002@yahoo.com.cn

【通信作者】 赵志辉(1965—), 男, 河北无极人, 教授, 博士生导师, 主要从事分子遗传与动物育种研究。

HMG-box region of Inner Mongolia cashmere goat *SRY* gene was 231 bp, encoding 77 amino acid residues. The corresponding sequences in GenBank of goat, sheep, pig, musk deer, sika deer, cattle, water buffalo and yak, had homology of 100.0%, 99.1%, 86.1%, 96.1%, 96.1%, 97.4%, 95.6% and 96.9% in nucleotide respectively with the Inner Mongolia cashmere goat, and had homology of 100.0%, 100.0%, 83.1%, 94.8%, 94.8%, 94.8%, 92.2% and 93.5% in induced amino acid respectively with the Inner Mongolia cashmere goat. The clustering based on the sequences of *SRY* gene HMG-box region among species was generally in agreement with the classic taxonomic relationship. 【Conclusion】 The HMG-box of *SRY* gene is rather conservative in evolution of species, and might be useful in the construction of phylogenetic tree among species.

**Key words:** Inner Mongolia cashmere goat; *SRY* gene; HMG-box; sequence analysis

*SRY* 基因是哺乳动物重要的性别决定基因, 定位于 Y 染色体上靠近拟常染色质区一个 35 kb 的区域, 呈父系单亲遗传<sup>[1]</sup>。在胚胎发育早期, *SRY* 基因可促使未分化的原始生殖脊分化成睾丸, 睾丸分泌的激素调节下游基因, 从而导致雄性性别完全形成<sup>[2]</sup>。根据对人、灵长类、鼠、兔、有袋目等物种 *SRY* 基因序列的研究可知, *SRY* 基因在物种进化过程中高度保守<sup>[1,3-5]</sup>。黄晓等<sup>[6]</sup>在鱼类中也找到了 *SRY* 基因的同源基因。已有的研究资料显示, 作为母系遗传 mtDNA 标记的重要补充, *SRY* 基因具有高度保守性, 涵盖完整的遗传进化信息, 在动物起源进化及系统分类等方面有望成为比较理想的分子遗传标记<sup>[7-11]</sup>。在 *SRY* 基因所编码的蛋白中, 有一段被命名为 HMG-box 的氨基酸残基序列, 类似于已知的转录因子, 具有 DNA 结合蛋白的特性。研究人员发现, 引起性别反转的 *SRY* 基因突变位点几乎均位于 HMG-box 基因序列内<sup>[12-14]</sup>。已有的研究资料显示, 牛、牦牛、绵羊、山羊等反刍动物的 *SRY* 基因 HMG-box 序列长度均为 231 bp, 编码 77 个氨基酸, 但在不同物种间序列存在一定的差异<sup>[15-16]</sup>。

内蒙古绒山羊产于内蒙古西部地区, 是我国最优良的绒山羊品种之一, 具有适应性、抗病力和放牧能力强的特点。内蒙古绒山羊有独特的体型外貌和良好的产绒性能, 所产羊绒具有品质良好、纤维柔软、有丝光、强度好、伸度大、净绒率高的特点。目前, 有关内蒙古绒山羊 *SRY* 基因 HMG-box 序列特征的研究尚未见报道。为此, 本研究对内蒙古绒山羊 *SRY* 基因的整个 HMG-box 区进行了克隆, 并与几个偶蹄目动物的 HMG-box 区序列进行比较分析, 以期深入研究绒用山羊父系起源的分子特征、性别决定机制及探寻 Y 染色体上的遗传标记提供基础性资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

1.1.1 供试血样 内蒙古绒山羊雌、雄个体血样, 采自黑龙江省农垦总局农场, EDTA 抗凝, 共 40 份 (2♂、38♀)。

1.1.2 试剂 dNTPs、*Taq* DNA 聚合酶、pMD18-T Vector、琼脂糖和 DNA Marker, 均为 TaKaRa 公司产品; UNIQ210 柱式 DNA 胶回收试剂盒和 UNIQ210 柱式质粒小剂量提取试剂盒, 为上海生物工程公司产品。

### 1.2 内蒙古绒山羊基因组 DNA 的提取

参照文献<sup>[17]</sup>的方法提取内蒙古绒山羊雌、雄性个体基因组 DNA。

### 1.3 内蒙古绒山羊 *SRY* 基因 HMG-box 序列的 PCR 扩增

1.3.1 引物设计与合成 根据 GenBank 中发表的山羊 *SRY* 基因序列 (登录号: Z30646), 设计 1 对引物, 用于 *SRY* 基因整个 HMG-box 区的扩增。上游引物序列为: 5'-TGTGAAAGGGGCGAAAATGT-3'; 下游引物序列为 5'-CCTGTATGTGAAGG GGTGC-3'。引物由大连宝生物公司合成, 预期扩增片段长度为 357 bp。

1.3.2 *SRY* 基因 HMG-box 的扩增 PCR 反应体系为 25  $\mu$ L: 10  $\times$  PCR 反应缓冲液 2.5  $\mu$ L, 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L, 2.5 mmol/L 的 dNTP 2  $\mu$ L, 10 mmol/L 上、下游引物各 2  $\mu$ L、模板 DNA 3  $\mu$ L, *Taq* DNA 聚合酶 0.5  $\mu$ L, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 25  $\mu$ L。PCR 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 7 min; 94  $^{\circ}$ C 变性 1 min, 56  $^{\circ}$ C 退火 50 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 30 个循环; 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min。同时设无模板 DNA 的空白对照。

1.4 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 的测序与序列分析

PCR 产物经低熔点琼脂糖凝胶电泳纯化后切胶回收,连接到 pMD18-T vector 上,转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞,经蓝白斑筛选,挑取阳性克隆进行 PCR 鉴定,同时将菌液送往大连宝生物工程公司进行测序。用 Bioedit 软件将测序结果与从 GenBank 中获取山羊(登录号:Z30646)、绵羊(登录号:Z30265)、猪(登录号:U49860)、麝香鹿(登录号:AY357218)、梅花鹿(登录号:AB046700)、牛(登录号:Z30327)、水牛(登录号:AY341337)和牦牛(登录号:AB077320)等部分偶蹄目动物 SRY 基因 HMG-box 区序列进行比对,并进行氨基酸序列推导及同源性分析<sup>[18]</sup>。基于不同物种 SRY-HMG

box 区的核苷酸序列,采用 MEGA4.0 软件的 UP-GMA 法构建物种间系统发育树<sup>[19]</sup>。

2 结果与分

2.1 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 区序列的 PCR 扩增

在内蒙古绒山羊雄性个体中扩增出 1 条长约 357 bp 的片段,与预期片段相符;而在雌性个体及无模版 DNA 的空白对照中均未见扩增条带(图 1)。表明本试验设计的引物为雄性特异性引物。

2.2 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 区的克隆与测序

PCR 鉴定结果及测序结果见图 2 和 3。

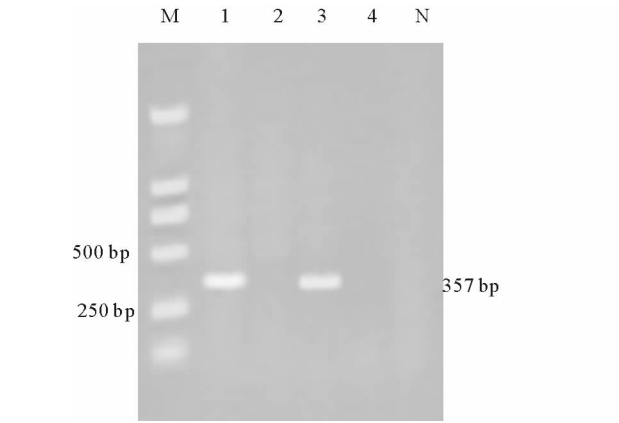


图 1 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 的 PCR 扩增  
M. DL2000 DNA Marker;1,3. 雄性个体;2,4. 雌性个体;N. 空白对照  
Fig.1 Electrophoresis of Inner Mongolia cashmere SRY gene HMG-box PCR product  
M. DL2000 DNA Marker;1,3. Male individuals;2,4. Female individuals;N. Negative control

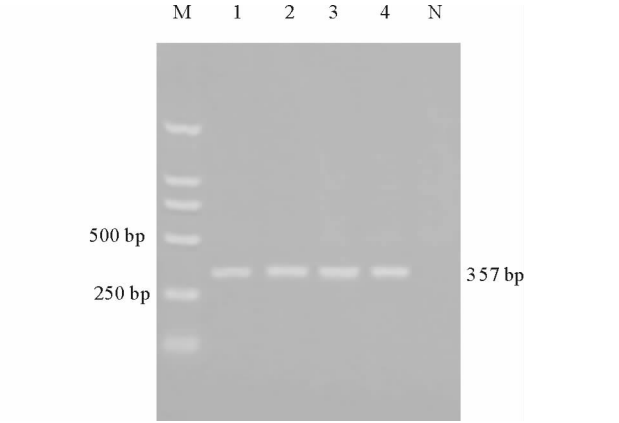


图 2 重组质粒的 PCR 鉴定  
M. DL2000 DNA Marker;1,3. 雄性个体的重组质粒 DNA;  
2,4. 雄性个体基因组 DNA;N. 空白对照  
Fig.2 Electrophoresis of PCR product of recombination plasmids  
M. DL2000 DNA Marker;1,3. Recombination plasmid DNA of male individuals;2,4. Genomic DNA of male individuals;N. Negative control



图 3 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 区及推导的氨基酸序列  
阴影区表示引物序列;方框表示 SRY 基因 HMG-box  
Fig.3 HMG-box and deduced amino acid sequences of SRY gene in Inner Mongolia cashmere goat  
The shadow regions indicate primers;The box indicates the HMG-box of SRY gene

由图 2 可知,用雄性个体 PCR 产物构建的重组质粒,可扩增出长度约为 357 bp 的条带。图 3 表明,试验扩增片段实际长度为 357 bp,与预期结果一致。以该片段为目标,在 NCBI 上进行 BLAST 搜索,结果显示的序列均为包含整个 HMG-box 序列 SRY 基因。表明本试验克隆到的片段,包含内蒙古绒山羊 SRY 基因的整个 HMG-box 区。序列分析结果显示,内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 长度

为 231 bp,编码 77 个氨基酸。

2.3 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 区序列分析

将内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 区序列与 GenBank 中公布的山羊、绵羊、猪、麝香鹿、梅花鹿、牛、水牛和牦牛等几种偶蹄目动物 HMG-box 区序列进行比较分析,结果见图 4 和表 1。

|                            |                                                               |     |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------|-----|
| 山羊 Goat (Z30646)           | CACGTCAGCGACCCATGAACGCCTTCATTGTGTGGTCTCGTGAACGAAGACGAAAGGTG   | 60  |
| 内蒙古绒山羊 I.M.cashmere goat   |                                                               | 60  |
| 绵羊 Sheep(Z30265)           |                                                               | 60  |
| 猪 Pig(U49860)              | . GT. . . . . T. . . . . T. A . . GA . . A . .                | 60  |
| 麝香鹿 Musk deer (AY357218)   | . . . A . . . . .                                             | 60  |
| 梅花鹿 Sika deer (AB046700)   |                                                               | 60  |
| 牛 Cattle(Z30327)           |                                                               | 60  |
| 水牛 Water buffalo(AY341337) | . . . A . . . . . T. . . . . T. .                             | 60  |
| 牦牛 Yak (AB077320)          |                                                               | 60  |
| 山羊 Goat (Z30646)           | GCTCTAGAGAATCCCAAATTGCAAACTCAGAGATCAGCAAGCAGCTGGGATACGAGTGG   | 120 |
| 内蒙古绒山羊 I.M.cashmere goat   |                                                               | 120 |
| 绵羊 Sheep(Z30265)           | . . . . . C. . . . .                                          | 120 |
| 猪 Pig(U49860)              | . . . . . C. TC. A . . . . . TG . . . . . G. A . . .          | 120 |
| 麝香鹿 Musk deer (AY357218)   | . . . . . C. A . . . . . T. . . . . T. . . . .                | 120 |
| 梅花鹿 Sika deer (AB046700)   | . . . . . C. A . . . . . G. T. . . . .                        | 120 |
| 牛 Cattle(Z30327)           | . . . . . A . A . . . . . C. . . . . T. . . . .               | 120 |
| 水牛 Water buffalo(AY341337) | . . . . . A . A . . . . . C. . T. . . . .                     | 120 |
| 牦牛 Yak (AB077320)          | . . . . . T. . . . . A . A . . . . . C. . . . . T. . . . .    | 120 |
| 山羊 Goat (Z30646)           | AAAAGGCTTACAGATGCTGAAAAGCGCCCATTCCTTTGAGGAGGCACAGAGACTACTAGCT | 180 |
| 内蒙古绒山羊 I.M.cashmere goat   |                                                               | 180 |
| 绵羊 Sheep(Z30265)           |                                                               | 180 |
| 猪 Pig(U49860)              | . . . . T. . . . . A . C. . . . . C. . . . . G. . . . AG . G  | 180 |
| 麝香鹿 Musk deer (AY357218)   | . . . . A . . . . . C                                         | 180 |
| 梅花鹿 Sika deer (AB046700)   | . . . . . A . . . . . C                                       | 180 |
| 牛 Cattle(Z30327)           |                                                               | 180 |
| 水牛 Water buffalo(AY341337) |                                                               | 180 |
| 牦牛 Yak (AB077320)          |                                                               | 180 |
| 山羊 Goat (Z30646)           | ATACACCGAGACAAATACCCGGGCTATAAATATCGACCTCGTCGGAAAGCC           | 231 |
| 内蒙古绒山羊 I.M.cashmere goat   |                                                               | 231 |
| 绵羊 Sheep(Z30265)           |                                                               | 231 |
| 猪 Pig(U49860)              | G. G. . . . . T. . . . . C. . . . . C. . G. GA                | 231 |
| 麝香鹿 Musk deer (AY357218)   | . . . . . A . . . . . T                                       | 231 |
| 梅花鹿 Sika deer (AB046700)   | G. . . . . A G                                                | 231 |
| 牛 Cattle(Z30327)           |                                                               | 231 |
| 水牛 Water buffalo(AY341337) | . . . . A . . . .                                             | 231 |
| 牦牛 Yak (AB077320)          |                                                               | 231 |

图 4 不同物种 SRY 基因 HMG-box 区核苷酸比对结果

Fig. 4 Alignment of nucleotide sequences of SRY gene HMG-box region from different species

从图 4 可见,内蒙古绒山羊 HMG-box 区序列与 GenBank 中山羊的序列完全一致,与绵羊仅在第 79 位(T-C)和第 228 位(A-G)2 个位点存在差异,而与其他几种偶蹄目动物均存在较大程度的差异。由表 1 可知,内蒙古绒山羊 HMG-box 区核苷酸与山羊的核苷酸序列同源性达 100%,与绵羊的同源性达 99.1%,与猪的同源性最低(86.1%),与其他几种偶蹄目动物的同源性为 95.6%~97.4%。

表 1 内蒙古绒山羊与几种偶蹄目动物 HMG-box 核苷酸序列及氨基酸序列同源性比较

Table 1 The homology of nucleotide sequence and amino acid sequence of HMG-box between Inner Mongolia Cashmere Goat and some artiodactylas %

| 物种<br>Species                          | 内蒙古绒山羊<br>Inner Mongolia<br>cashmere goat | 山羊<br>Goat | 绵羊<br>Sheep | 猪<br>Pig | 麝香鹿<br>Musk deer | 梅花鹿<br>Sika deer | 牛 Cattle | 水牛<br>Buffalo | 牦牛 Yak |
|----------------------------------------|-------------------------------------------|------------|-------------|----------|------------------|------------------|----------|---------------|--------|
| 内蒙古绒山羊<br>Inner Mongolia cashmere goat | —                                         | 100.0      | 100.0       | 83.1     | 94.8             | 94.8             | 94.8     | 92.2          | 93.5   |
| 山羊 Goat                                | 100.0                                     | —          | 100.0       | 83.1     | 94.8             | 94.8             | 94.8     | 92.2          | 93.5   |
| 绵羊 Sheep                               | 99.1                                      | 99.1       | —           | 83.1     | 94.8             | 94.8             | 94.8     | 92.2          | 93.5   |
| 猪 Pig                                  | 86.1                                      | 86.1       | 86.5        | —        | 83.1             | 87.0             | 80.5     | 77.9          | 79.2   |
| 麝香鹿 Musk deer                          | 96.1                                      | 96.1       | 95.6        | 84.8     | —                | 94.8             | 92.2     | 92.2          | 90.9   |
| 梅花鹿 Sika deer                          | 96.1                                      | 96.1       | 95.6        | 85.7     | 96.1             | —                | 92.2     | 89.6          | 90.9   |
| 牛 Cattle                               | 97.4                                      | 97.4       | 96.9        | 84.8     | 96.1             | 96.1             | —        | 92.2          | 98.7   |
| 水牛 Buffalo                             | 95.6                                      | 95.6       | 95.2        | 83.1     | 95.2             | 94.8             | 96.5     | —             | 90.9   |
| 牦牛 Yak                                 | 96.9                                      | 96.9       | 96.5        | 84.4     | 95.6             | 95.6             | 99.5     | 96.1          | —      |

注:左下部分为核苷酸同源性;右上部分为氨基酸同源性。  
Note:Bottom-left parts indicate the homology of nucleotide sequence;and top-right parts indicate the homology of amino acid sequence.

内蒙古绒山羊与其他几种偶蹄目动物 SRY 基因 HMG-box 区推导的氨基酸序列比对结果见图 5。由图 5 可知,内蒙古绒山羊 HMG-box 区氨基酸序列与山羊和绵羊的序列完全一致,而与其他几种偶蹄目动物存在不同程度的差异。由表 1 可知,内蒙古绒山羊 HMG-box 区氨基酸序列与山羊和绵羊序列的同源性均达 100%,与猪的同源性最低(83.1%),与其他几种偶蹄目动物序列的同源性为 92.2%~94.8%。

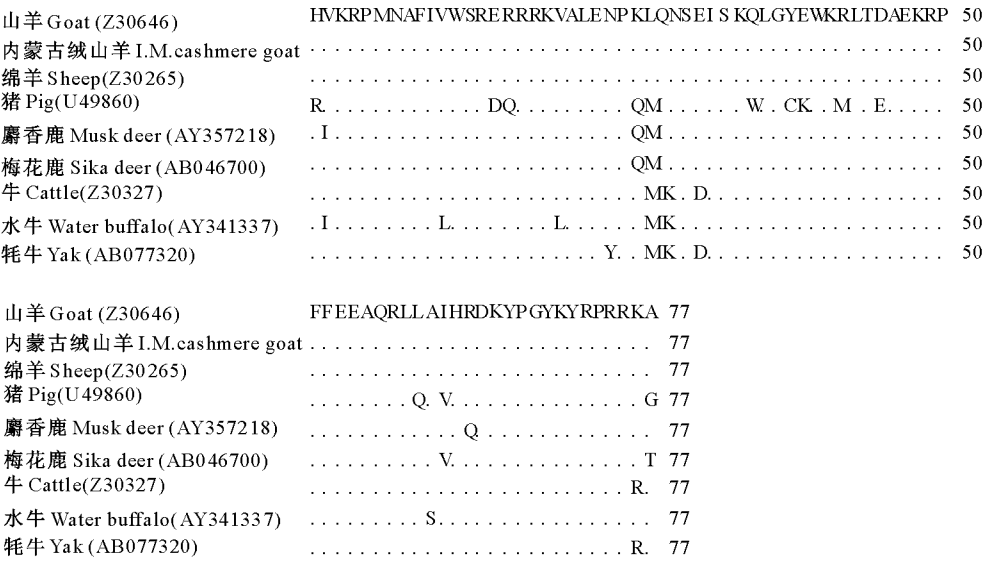


图 5 不同物种 SRY 基因 HMG-box 区推导的氨基酸序列比较结果

Fig. 5 Alignment of deduced amino acid sequences of SRY gene HMG-box from different species

2.4 内蒙古绒山羊 SRY 基因 HMG-box 区的分子进化分析

基于 SRY-HMG box 区的核苷酸序列,构建部分偶蹄目物种间的系统发育树(图 6)。由图 6 可见,整个系统树分为 A 和 B 2 个分枝,A 分枝包括

山羊、绵羊、牛、牦牛、水牛、麝香鹿及梅花鹿,B 分枝只有猪。系统分类结果基本上支持这些偶蹄目动物传统的系统发育关系。值得注意的是,水牛的聚类结果似乎有些意外,其原因有待进一步探讨。

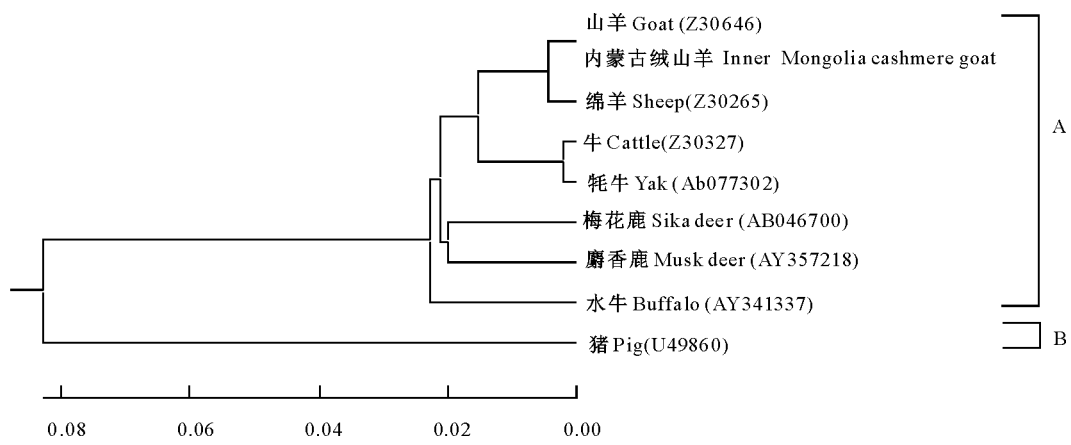


图 6 基于 SRY 基因 HMG-box 区核苷酸序列的部分偶蹄目动物分子进化树

Fig. 6 Phylogenetic tree of some artiodactyla animals based on of SRY gene HMG-box region nucleotide sequences

3 结论与讨论

哺乳动物雄性特异的 SRY 基因在进化中很保守<sup>[20]</sup>, 人们甚至在鱼类、爬行类、鸟类和果蝇中也检测到其同源基因。本试验成功地扩增并克隆了内蒙古绒山羊雄性个体特异的 SRY 基因的 HMG-box 区, 其与 GenBank 中山羊的核苷酸序列同源性达 100%, 与绵羊、猪、麝香鹿、梅花鹿、牛、水牛和牦牛等偶蹄目动物的同源性分别为 99.1%, 86.1%, 96.1%, 96.1%, 97.4%, 95.6% 和 96.9%。结果提示, SRY 基因 HMG-box 区不仅在物种内高度保守, 而且在物种间也是非常保守的。

本研究构建的部分偶蹄目物种间系统发育树基本上与这些物种的传统系统发育关系相吻合, 表明试验所采用的系统聚类方法是合理的, 也暗示 SRY 基因 HMG-box 区可以作为构建系统发育树的候选基因。因此作者建议, 在进行大范围的物种间或物种内系统发育关系研究时, 在选用双亲共同遗传的核 DNA 标记和母系遗传的线粒体 DNA 标记<sup>[21]</sup>的同时, 尚应考虑父系遗传的 Y 染色体特异非重组区 DNA 标记。

已有研究资料显示, SRY 基因编码的蛋白在哺乳动物性别调控途径中具有十分重要的开关功能。一般认为, SRY 蛋白识别核心靶序列是通过与 DNA 螺旋小沟内的核苷酸发生作用来实现的。一旦 SRY 蛋白序列中氨基酸发生突变, 不仅会改变其基团的化学性质, 也可能导致 SRY 蛋白不能正确识别靶序列, 从而失去对性别发育的调控功能, 导致性别发生反转。HMG-box 是 SRY 基因编码区开放阅读框的一部分, 迄今为止, 引起性别反转的 SRY 基因突变位点几乎均位于 HMG-box 序列内<sup>[12-14]</sup>, 这

暗示 SRY 基因 HMG-box 在性别发育中具有十分重要的作用。也有资料显示, SRY 蛋白并不直接激活雄性发育途径, 而是通过其他一些物质, 间接打开雄性发育途径的信号传导<sup>[22]</sup>。由此可见, 动物性别决定的机制相当复杂, SRY 基因在性别决定及分化中的确切作用机制尚有待进一步研究。

本研究成功地克隆了内蒙古绒山羊 SRY 基因的 HMG-box 区, 其长度为 231 bp, 共编码 77 个氨基酸; SRY 基因 HMG-box 在物种进化中高度保守, 有望作为构建系统发育树的候选基因。

[参考文献]

[1] Sinclair A H, Berta P, Palmer M S, et al. A gene from the human sex-determining region encode a protein with homology to a conserved DNA-binding motif [J]. Nature, 1990, 346: 240-244.

[2] Van de Wetering M, Clevers H. Sequence-specific interaction of the HMG box proteins TCF-1 and SRY occurs within the minor groove of a Watson-Crick double helix [J]. EMBO Journal, 1992, 11: 3039-3044.

[3] 张思仲, 周荣家. 大熊猫 SRY 基因的 PCR 扩增和克隆 [J]. 遗传学报, 1994, 21(4): 281-286.

Zhang S Z, Zhou R J. PCR Amplification and Cloning of Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*) SRY gene [J]. Acta Genetica Sinica, 1994, 21(4): 281-286. (in Chinese)

[4] Gubbay J, Collignon J, Koopman R, et al. Gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes [J]. Genomics, 1995, 29: 541-545.

[5] King V, Goodfellow P N, Pearks Wilkerson A J, et al. Evolution of the male determining gene SRY within the cat family felidae [J]. Genetics, 2007, 175: 1855-1867.

[6] 黄 晓, 周荣家, 程汉华, 等. 两种淡水鱼 SOX 基因的扩增和测序 [J]. 动物学报, 1998, 44(2): 239-240.

Huang X, Zhou R J, Cheng H H, et al. The SOX gene in two

species of fresh-water fishes [J]. *Acta Zoologica Sinica*,1998, 44(2):239-240. (in Chinese)

[7] Hurles M,Jobling M. Haploid chromosomes in molecular ecology: lessons from the human Y [J]. *Molecular Ecology*,2001, 10:1599-1613.

[8] 杨晓娟,杨玉华,张义正,等. 浣熊 *SRY* HMG-box 的克隆和序列分析 [J]. *动物学报*,2002,48(3):425-428.  
Yang X J,Yang Y H,Zhang Y Z,et al. Cloning and sequence analysis of *SRY* HMG-box from raccoon [J]. *Acta Zoologica Sinica*,2002,48(3):425-428. (in Chinese)

[9] 郭金虎,单祥年,常 青,等. 赤鹿 *SRY* 基因的测序及其与部分偶蹄目动物 *SRY* 基因序列的比较 [J]. *动物学报*,2001,47(2): 145-149.  
Guo J H,Shan X N,Chang Q,et al. Sequencing *SRY* gene of *muntiacus muntiac vaginalis* and a phylogenetic comparison with some of *artiodactyla* [J]. *Acta Zoologica Sinica*,2001,47 (2):145-149. (in Chinese)

[10] Kikkawa Y,Takada T,Sutopo,et al. Phylogenies using mtDNA and *SRY* provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle [J]. *Animal Genetics*,2003,34 (2):96-101.

[11] 张 亮,邹方东,陈 三,等. 林麝及马麝 *SRY* 基因片段克隆及其在系统进化分析中的应用 [J]. *动物学研究*,2004,25 (4):334-340.  
Zhang L,Zou F D,Chen S,et al. Cloning of *SRY* gene from *moschus berezovskii* and *M. chrysogaster* and its application in phylogenetic analysis [J]. *Zoological Research*,2004,25 (4):334-340. (in Chinese)

[12] Whitfield L S,Lovell-Badge R,Peter N G. Rapid sequence evolution of the mammalian sex-determining gene *SRY* [J]. *Nature*,1993,364:713-715.

[13] Hawkins J R. Sex determination [J]. *Human Molecular Genetics*,1994,3:1463-1467.

[14] Denny P,Swift S,Brand N. A conserved family of genes related to the testis determining gene,*SRY* [J]. *Nucleic Acids Research*,1992,20:2887-2888.

[15] Cheng H,Shi H,Zhou R,et al. Characterization of Bovidae sex-determining gene *SRY* [J]. *Genetics Selection Evolution*, 2001,33:687-694.

[16] 裴 杰,刘小林,杜卫华,等. 中国荷斯坦牛 *SRY* 基因编码区的克隆与原核表达 [J]. *西北农林科技大学学报:自然科学版*,2006,34(7):17-21.  
Pei J,Liu X L,Du W H,et al. Cloning of Holstein cow's *SRY* ORF and its expression in *E. coli* [J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*,2006,34(7):17-21. (in Chinese)

[17] Debomoy K L,Nurnberger J I. A rapid non-enzymatic method for preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies [J]. *Nucleic Acids Research*,1991,19:5444.

[18] Hall T A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. *Nucleic Acids Symposium Series*,1999,41:95-98.

[19] Tamura K,Dudley J,Nei M,et al. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*,2007,24:1596-1599.

[20] Bianchi N O,Bianchi M S. Male specific *SRY* patterns in marsupials [J]. *Journal of Mammalogy*,1993,74:533-534.

[21] Murphy W J,Eizirik E,Johnson W E. Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals [J]. *Nature*,2001,409: 614-618.

[22] Jimenez R,Burgos M. Mammalian sex determination: joining pieces of the genetic puzzle [J]. *Bioessays*,1998,20(9):696-699.