

马世杰, 张泽华, 李宏强, 等. 干扰角蛋白 17 基因对燕山绒山羊黑色素细胞黑色素生成相关基因的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2026, 58 (8): 1-8.
MA S J, ZHANG Z H, LI H Q, et al. The effect of KRT17 gene interference on melanogenesis-related genes in Yanshan cashmere goat melanocytes [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2026, 58 (8): 1-8.

干扰角蛋白 17 基因对燕山绒山羊黑色素细胞黑色素生成相关基因的影响

马世杰, 张泽华, 李宏强, 孙晓凤, 谢遇春, 刘铮铸, 李简溪,
刘蕊, 张兴臣, 张家璇, 乔贤*

(河北科技师范学院动物科技学院/河北省特色动物种质资源挖掘与创新重点实验室, 河北 秦皇岛 066004)

摘要: 旨在通过建立燕山绒山羊皮肤黑色素细胞的原代培养, 探究角蛋白 17 (KRT17) 在该细胞中的表达及其对黑色素生成关键基因表达的调控作用。采用二次酶解法 (Dispase II+胰蛋白酶) 和细胞筛分离培养燕山绒山羊耳缘皮肤黑色素细胞, 通过多巴染色、Masson-Fontana 黑色素染色和前黑素体蛋白 (gp100) 免疫组化进行鉴定; KRT17 基因的干扰片段转染至黑色素细胞后, 通过实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 和 Western blot 验证干扰效率, 检测小眼畸形相关转录因子 (MITF)、酪氨酸酶 (TYR)、酪氨酸酶相关蛋白 1 (TYRP1) 和多巴色素异构酶 (DCT) 的 mRNA 相对表达水平和黑色素含量。结果: 成功获得了形态典型, 多巴染色阳性, Masson-Fontana 黑色素染色阳性且 gp100 表达阳性 (纯度>90%) 的原代燕山绒山羊黑色素细胞; 干扰结果显示, 与对照组相比, 沉默 KRT17 组黑色素含量显著升高 ($P<0.05$), 显著上调了 MITF、TYR、TYRP1 和 DCT 的 mRNA 表达水平 ($P<0.05$)。本研究成功建立了燕山绒山羊黑色素细胞的体外培养体系, 证实 KRT17 在该细胞中稳定表达, 且通过负向调控 MITF 及其下游靶基因的转录水平, 参与调控燕山绒山羊黑色素的生成过程。

关键词: 燕山绒山羊; 黑色素细胞; 角蛋白 17; 黑色素生成

中图分类号: S827 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2026)08-0001-08

The effect of KRT17 gene interference on melanogenesis-related genes in Yanshan cashmere goat melanocytes

MA Shijie, ZHANG Zehua, LI Hongqiang, SUN Xiaofeng, XIE Yuchun, LIU Zhengzhu, LI Jianxi,
LIU Rui, ZHANG Xingchen, ZHANG Jiakuan, QIAO Xian*

(Institute of Animal Science and Technology, Hebei Normal University of Science and Technology/Hebei Province Key Laboratory of Characteristic Animal Germplasm Resources Exploration and Innovation, Qinhuangdao 066004, China)

Abstract: This study aimed to establish a primary culture and identification method for skin melanocytes from Yanshan cashmere goats, and to investigate the expression of keratin 17 (KRT17) in these cells as well as its regulatory role in the expression of key melanogenesis genes. Melanocytes were isolated from the ear margin skin of Yanshan cashmere goats using a two-step enzymatic digestion (Dispase II plus trypsin) combined with cell sieving, and were identified by DOPA staining, Masson-Fontana melanin staining, and immunohistochemistry for premelanosome protein (gp100). After transfection of KRT17 interference fragments into melanocytes, the knockdown efficiency was verified by RT-qPCR and Western blot. Then, the relative mRNA expression levels of microphthalmia-associated transcription factor (MITF), tyrosinase (TYR), tyrosinase-related protein 1 (TYRP1), and dopachrome tautomerase (DCT) were measured; and melanin content was determined. Primary Yanshan cashmere goat melanocytes with typical morphology were successfully obtained, showing positive DOPA staining, positive Masson-Fontana melanin staining, and positive gp100 expression (purity>90%). The knockdown results showed that, compared with the control group, the KRT17-silenced group exhibited increased melanin content ($P<0.05$) and significantly upregulated mRNA expression levels of MITF, TYR, TYRP1, and DCT ($P<0.05$). This study successfully established an *in vitro* culture system for Yanshan cashmere goat melanocytes, confirmed that KRT17 was stably expressed in these cells, and demonstrated that KRT17 participated in regula-

收稿日期: 2025-11-29; 修回日期: 2026-05-22

基金项目: 河北省高等学校科学研究项目青年基金项目 (QN2026802); 河北省自然科学基金青年科学基金项目 (C202540703)

第一作者: 马世杰, 男, 硕士

* 通信作者: 乔贤, 讲师, 研究方向为动物分子遗传育种, E-mail: qiaoxianqx@126.com。

ting melanogenesis in Yanshan cashmere goats by negatively regulating the transcription levels of MITF and its downstream target genes.

Keywords: Yanshan cashmere goat; melanocyte; KRT17; melanogenesis

燕山绒山羊是河北燕山地区的一个优良地方品种,最大优点是适应当地的农业生态环境条件,绒毛质量好^[1]。白色羊毛因其可被染成不同的颜色而在纺织行业中具有较高的价值,然而,实际生产中会有一些其他颜色的羊毛产生,降低经济收益^[2]。因此,许多研究人员致力于研究动物毛色的分子机制。

角蛋白(KRT)17是I型角蛋白,属于中间丝蛋白,是构成细胞骨架的一个重要组成部分^[3]。在正常皮肤中,KRT17主要在毛囊、指甲、汗腺等皮肤附属器结构中表达^[4]。目前关于KRT17影响小鼠毛色调控的研究已有报道。Bennett等^[5]研究显示,在小鼠中已鉴定出控制毛发颜色形成不同通路的127个基因,KRT17作为影响黑色素细胞发育的一个基因。根据欧洲色素细胞研究学会(<http://www.espcr.org/micemut/>)提供的颜色基因数据库,KRT17显示与色素沉着相关^[6-7]。Yang等^[8]研究结果表明,小鼠不同毛色皮肤的基因表达谱显示KRT17为差异基因。目前,针对KRT17基因对山羊毛色发育及其黑色素细胞合成黑色素的影响还鲜有报道。

黑色素细胞(melanocyte)是皮肤、毛发和眼睛中的特殊细胞,主要功能是合成黑色素^[9]。黑色素能够吸收紫外线,保护皮肤细胞免受紫外线伤害,同时决定肤色和毛发的颜色,而黑色素细胞位于表皮基底层,其合成的黑色素通过黑素小体转运至周围角质形成细胞,形成色素屏障^[10]。黑色素合成的经典信号通路以小眼畸形相关转录因子(MITF)为核心调控者,激活下游酪氨酸酶(TYR)、酪氨酸酶相关蛋白1(TYRP1)和多巴色素互变异构酶(DCT)等一系列酶的表达,最终催化黑色素合成,该通路通常被称为“cAMP-MITF-色素沉着途径”。MITF活性受丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路、Wnt/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin)信号通路和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路精细调控,也受转录因子SRY盒转录因子10(SOX10)和配对盒转录因子3(PAX3)的精细调控^[11]。但是,目前关于KRT17基因调控黑色素细胞黑色素的生成及影响黑色素合成相关基因(MITF、TYR、TYRP1、DCT)表达的关系还不清楚。

本研究旨在建立燕山绒山羊黑色素细胞体外模型,研究KRT17对黑色素生成关键基因表达的影响,为揭示绒山羊毛色形成的机制提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

健康1岁的燕山绒山羊耳后皮肤组织样品采自河北科技师范学院牧场,经75%乙醇消毒,用含有双抗的PBS冲洗3次后放入DMEM培养基中并置于冰盒中保存转运,立即送达实验室进行黑色素细胞的分离试验。

DMEM培养基购自美国Gibco公司;胎牛血清购自上海道鹏生物科技有限公司;MeIM培养基购自美国ScienCell公司;Masson-Fontana黑色素染色液购自北京雷根生物技术有限公司;0.25%胰蛋白酶-EDTA、青链霉素混合液、Dispase II、PBS、左旋多巴(L-Dopa)、4%多聚甲醛、Triton X-100、山羊抗兔二抗购自北京索莱宝科技有限公司;RNA提取试剂盒RNAiso Plus、PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time)、TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR、Premix Taq™购自宝生物工程(大连)有限公司;TransIntro® EL Transfection Reagent EL转染试剂购自北京全式金生物技术股份有限公司;快速细胞冻存液(无血清)、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、蛋白彩虹Marker购自上海雅酶生物医药科技有限公司;兔抗KRT17多克隆抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗前黑素体蛋白(gp100)多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;兔抗GAPDH多克隆抗体购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.2 黑色素细胞分离与培养

获取的耳后皮肤组织经75%乙醇消毒2 min后,使用含 $5 \times$ 双抗(青霉素500 U/mL、链霉素500 μ g/mL)的PBS溶液充分漂洗3次,并重复浸泡3次以彻底清除杂质。随后,将组织转移至Dispase II消化液中,于4℃条件下消化14~16 h。在超净工作台内,将消化后的组织用PBS清洗,随后轻柔分离表皮与真皮。将表皮组织剪碎,加入胰蛋白酶-EDTA消化液,置于37℃、5% CO₂培养箱中消化10 min。消化结束后,加入等量终止液终止反应,收集细胞悬液,以1 000 r/min离心10 min。弃去上清液后,加入3 mL MeIM培养基重悬细胞,再次以相同条件离心。最后以MeIM培养基重新悬浮细胞,经400目过滤器过滤后,接种于6孔板中(每孔1 mL细胞悬液及1 mL培养基),置于37℃、5% CO₂培养箱内进行原代培养,并定期观察黑色素细胞生长情况^[12]。

1.3 黑色素细胞的鉴定

1.3.1 多巴染色

取第 3 代黑色素细胞爬片，待细胞汇合度达约 50%时，弃去培养基，经 PBS 清洗 3 次。使用 4%多聚甲醛固定细胞 30 min，PBS 再次清洗 3 次后，加入 0.3% Triton X-100（PBS 配制）室温透化 15 min。PBS 清洗 3 次，加入 0.1% L-Dopa 染色液，于 37 ℃避光孵育 4 h。染色结束后以 PBS 冲洗，显微镜下观察并拍照^[13]。

1.3.2 Masson-Fontana 黑色素染色

已固定的细胞爬片经 PBS 浸润后，加入 Fontana 氨银溶液，于 56 ℃避光孵育 30 min。随后用蒸馏水浸洗 5~6 次，每次 1~2 min。加入海波溶液作用 1~5 min，自来水冲洗 3~5 min 后，以中性红染色液复染 5 min。最后经蒸馏水清洗，于显微镜下观察染色结果^[14]。

1.3.3 免疫组化鉴定黑色素细胞纯度

取第 3 代细胞爬片，经 PBS 清洗后，用 4%多聚

甲醛固定 10 min。PBS 清洗 3 次，以 0.3% Triton X-100 室温透化 15 min。随后使用 3% H₂O₂ 孵育 5~10 min 以消除内源性过氧化物酶活性，PBS 清洗后，以 1% BSA（牛血清白蛋白）室温封闭 30 min。弃去封闭液，加入 1% BSA 稀释的一抗 gp100（1：500），以同等体积 1% BSA 作为阴性对照，4 ℃孵育过夜。PBS 清洗后，加入 1% BSA 稀释的二抗（1：300），37 ℃孵育 30 min。PBS 充分清洗后，进行 DAB 显色 5~10 min，苏木精复染，系列脱水后封片，于显微镜下观察鉴定。

1.4 引物与干扰序列的设计与合成

根据 NCBI 上公布的山羊序列(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)，运用 Primer Premier 5.0 软件，设计 MITF、TYR、TYRP1、DCT 和 KRT17 基因的引物（表 1）以及 KRT17 的干扰序列引物（表 2）。引物序列均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

表 1 引物序列信息

引物名称	引物序列（5'→3'）	产物大小/bp
GAPDH	F: GCGGTGAACACGAGAAGTA	141
	R: GGCCTGGACACTGGTCATA	
MITF	F: TCCCAAGTCAAATGATCCAG	164
	R: GAGCCTGCATTTCAAGTTCC	
TYRP1	F: TGATGGCAGAGATGACCGAGAGG	232
	R: CTGAGGGTGAGTGCTGTGCTTTG	
DCT	F: GGGGATGCTCACGGTTTTG	124
	R: CTCCTCGGTGTATCTTTTGTGCTT	
TYR	F: GCGGAAGTTGTAAGTTTGG	142
	R: GGGCTGCTGCTATGTTTT	
KRT17	F: CTCTGCTGGCGGCTATG	108
	R: TTCTGCATGGTGGCTTTCT	

表 2 KRT17 干扰序列

名称		引物序列（5'→3'）
siRNA-1	KRT17-438-s	GCAGCUACUCUAGCUGCUA
	KRT17-438-a	UAGCAGCUAGAGUAGCUGC
siRNA-2	KRT17-699-s	GCUCCUACUUCAAGACCAU
	KRT17-699-a	AUGGUCUUGAAGUAGGAGC
siRNA-3	KRT17-137-s	GAGGAGUGAGCCUGUUGUA
	KRT17-137-a	UACAACAGGCUCACUCCUC

1.5 黑色素细胞抗 KRT17 蛋白免疫组化染色

试验选用抗体为 KRT17（1：4 000），步骤同 1.3.3。

1.6 细胞转染

将鉴定合格的黑色素细胞悬液加到 6 孔板中，待细胞培养融合度达 70%时，将试验分为 4 组（每组 3

个重复): siRNA-1、siRNA-2、siRNA-3、NC (对照) 组。使用 TransIntro® EL Transfection Reagent EL 转染试剂进行转染, 培养 48 h 后收集细胞。

1.7 黑色素含量测定

山羊黑色素细胞转染 48 h 后, 加入 0.25% 胰蛋白酶 37 ℃ 消化 1.5 min, 用等量终止液终止消化, 加 0.2 mol/L 的 NaOH 溶液裂解黑色素细胞, 放置在 80 ℃ 的金属浴中 15 min, 使黑色素细胞裂解充分。将裂解后的黑色素细胞悬液转移至 96 孔板中, 每组 3 个重复; 使用酶标仪测 490 nm 波长时的吸光度 (OD_{490} 值), 计算各组细胞的黑色素含量^[15]。

相对黑色素含量 = $[(OD_{490 \text{ 干扰组}} - OD_{490 \text{ 空白}}) \div \text{细胞数}_{\text{干扰组}}] \div [(OD_{490 \text{ NC组}} - OD_{490 \text{ 空白}}) \div \text{细胞数}_{\text{NC组}}] \times 100\%$ 。

1.8 总 RNA 的提取及实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)

细胞转染 48 h 后, 弃掉培养基, 用 PBS 洗 3 次, 每组加入 1 mL 的 RNAiso Plus, 提取细胞总 RNA。用 PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time) 进行 cDNA 的合成。用 TB Green® Premix Ex Taq™ II FAST qPCR 试剂盒进行 PCR 反应。PCR 反应体系 (20 μL): TB Green 10 μL , 上下游引物各 1 μL , 模板 2 μL , ddH₂O 6 μL 。根据操作规程, 采用两步法扩增标准程序, 对反应条件进行设定: 预变性 95 ℃ 30 s; 95 ℃ 10 s, 60 ℃ 30 s, 共 40 个循环; 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 95 ℃ 15 s。在 RT-qPCR 试验中, 以 GAPDH 为内参基因, 每组 3 个重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析。

1.9 Western blot

转染 48 h 后, 使用放射免疫沉淀法裂解缓冲液

(RIPA) 提取细胞总蛋白, 并使用二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度。将总蛋白与 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液混合后在沸水中加热 5 min, 根据测定浓度调整上样体积, 使每孔总蛋白量为 15 μg (上样体积 10 μL)。经 SDS-PAGE 分离后, 转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜, 用含 Tween 20 的 Tris 缓冲盐水 (TBST) 洗涤, 用 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h, 加入稀释的 KRT17 (1:2 000) 和 GAPDH (1:5 000) 一抗, 4 ℃ 孵育过夜。次日, TBST 洗涤 3 次, HRP 标记的二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, TBST 再次洗涤后, ECL 化学发光法显影, 使用 ImageJ 软件进行灰度分析。

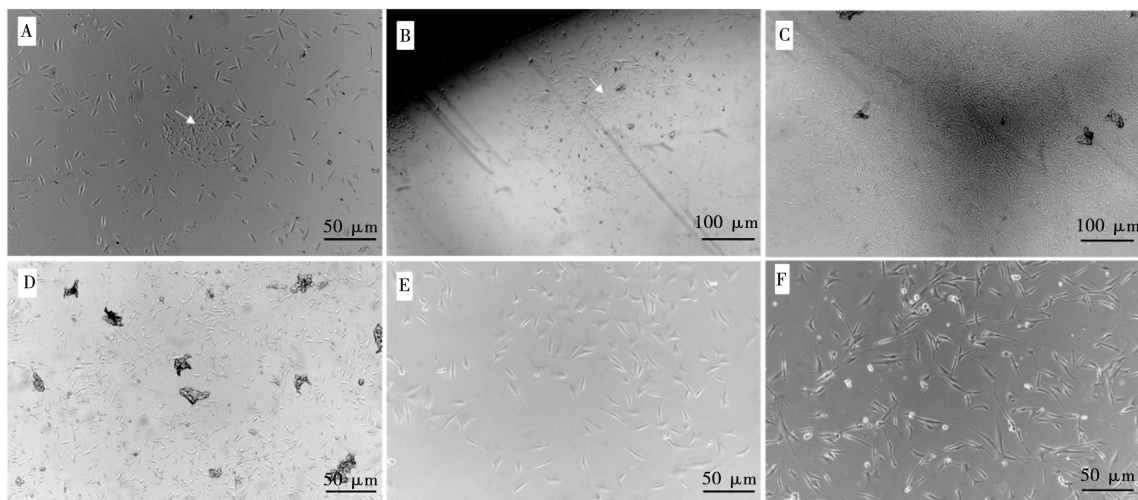
1.10 数据统计与分析

数据统计分析借助 GraphPad Prism 9.5.0 软件, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行组间差异比较, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。结果以 “平均值 $\pm$ 标准误” 表示。

2 结果与分析

2.1 燕山绒山羊原代黑色素细胞的分离培养与形态学观察

燕山绒山羊原代黑色素细胞形态学观察结果见图 1。细胞培养到 3 d (图 1A), 可观察到三角形或两极树突状细胞, 为黑色素细胞; 7 d (图 1B)、14 d (图 1C) 观察到黑色素细胞随着时间慢慢增多, 状态良好; 第 1 代 (图 1D)、第 2 代 (图 1E)、第 3 代 (图 1F) 黑色素细胞呈多极或星状树突状形态, 第 3 代形态最典型, 树突结构清晰。由此可表明, 燕山绒山羊黑色素细胞状态健康可以稳定传代。



A. 原代培养后 3 d 的细胞; B. 原代培养后 7 d 的细胞; C. 原代培养后 14 d 的细胞; D. 第 1 代培养 2 d 的黑色素细胞; E. 第 2 代培养 2 d 的黑色素细胞; F. 第 3 代培养 2 d 的黑色素细胞。

图 1 燕山绒山羊原代黑色素细胞形态学观察

2.2 燕山绒山羊原代黑色素细胞的鉴定

通过多巴染色、Masson-Fontana 黑色素染色和 gp100 免疫组化鉴定燕山绒山羊原代黑色素细胞，结果见图 2。由图 2A、2B 可见，相对于对照组，阳性

组胞体呈黑灰色；由图 2C、2D 可见，相对于对照组，阳性组胞体呈黑色；由图 2E、2F 可见，阳性组胞体呈免疫阳性反应。3 种方法证实，培养出的原代细胞为原代黑色素细胞。

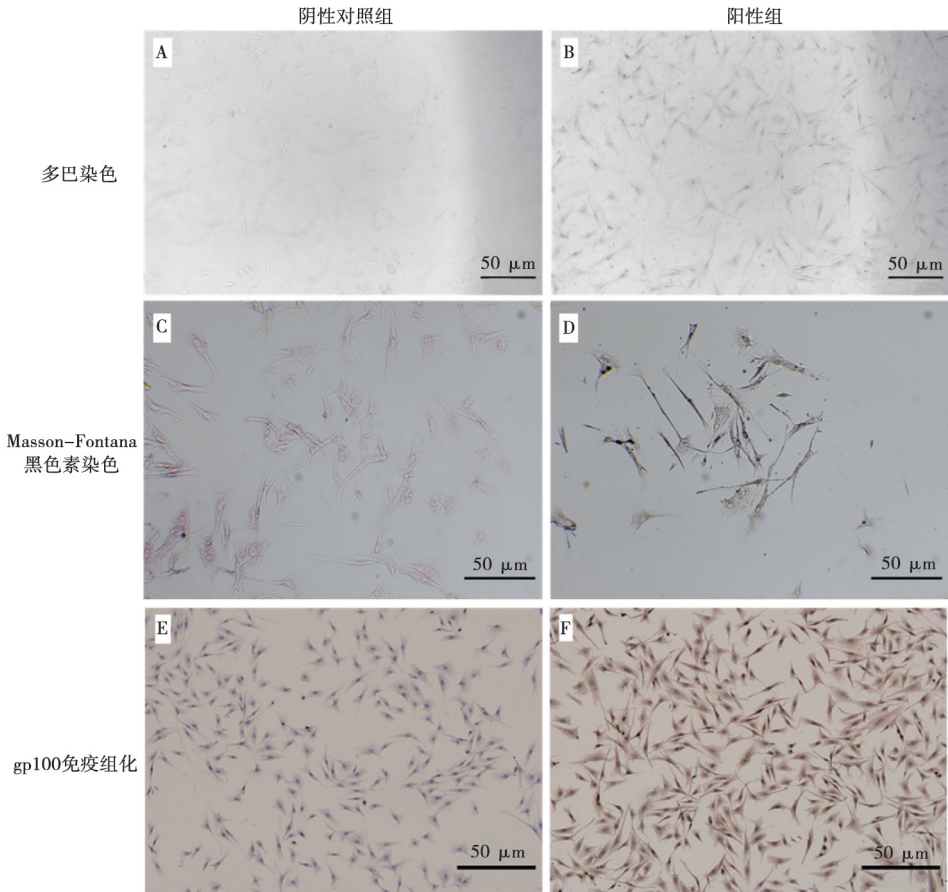


图 2 燕山绒山羊原代黑色素细胞鉴定

2.3 KRT17 在黑色素细胞中的表达

KRT17 免疫组化结果见图 3。KRT17 在黑色素细

胞中呈现免疫阳性表达（图 3B），表明 KRT17 蛋白在黑色素细胞中稳定表达。

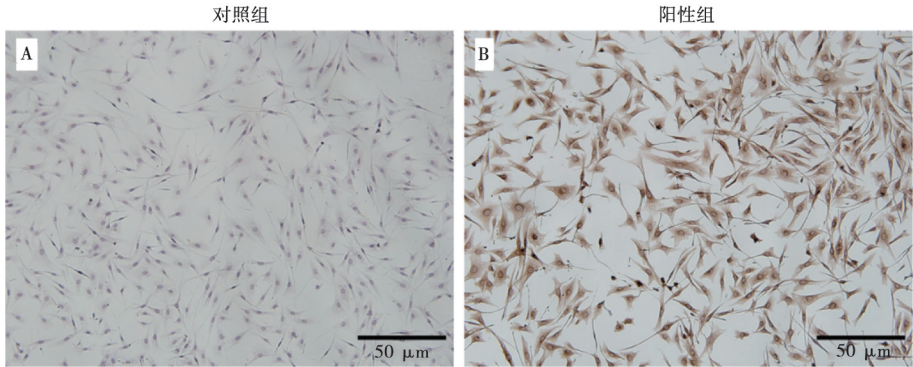


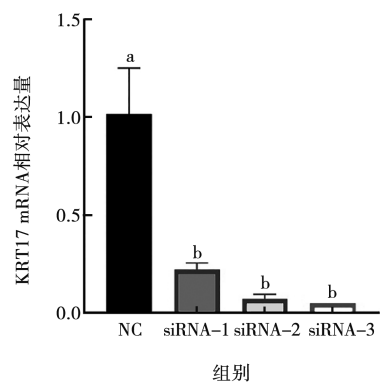
图 3 KRT17 蛋白在皮肤组织的毛囊黑色素细胞中的表达

2.4 KRT17 干扰效率的验证

转染不同 KRT17 干扰序列后，siRNA-1、siRNA-2、siRNA-3 组相较于 NC 组，KRT17 mRNA

（图 4）和蛋白（图 5）表达量均显著下降（ $P < 0.05$ ），其中 siRNA-3 组 KRT17 mRNA 和蛋白表达量最低，说明 siRNA-3 组干扰效率最显著，后续试

验以 siRNA-3 组作为试验组。



不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)，下同。

图 4 KRT17 干扰效率的基因定量结果

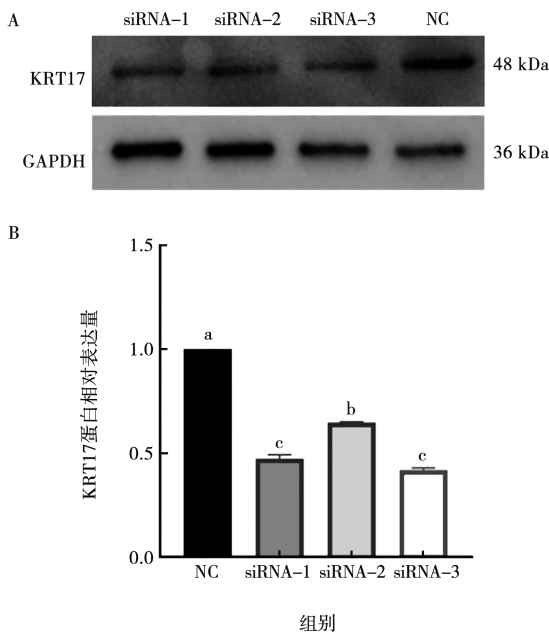


图 5 KRT17 干扰效率的蛋白定量结果

2.5 KRT17 对黑色素生成的影响

通过 NaOH 溶液裂解黑色素细胞，测定黑色素在 490 nm 波长下的吸光度来间接确定干扰 KRT17 基因组相对于 NC 组的黑色素含量，结果见图 6。结果发现，siRNA-3 组的黑色素含量为对照组的 1.7 倍 ($P<0.05$)。试验结果证实，干扰 KRT17 对山羊黑色素细胞生成黑色素有促进作用。

2.6 KRT17 对黑色素生成关键基因表达的影响

通过 RT-qPCR 检测了干扰 KRT17 基因对 MITF 及其下游基因 TYRP1、DCT 和 TYR 表达的影响，结果见图 7。与对照组相比，siRNA-3 组 MITF 的 mRNA 表达量显著升高 0.4 倍 ($P<0.05$)，TYRP1 的 mRNA 表达量显著升高 1.4 倍 ($P<0.05$)，DCT 的

mRNA 表达量显著升高 0.2 倍 ($P<0.05$)，TYR 的 mRNA 表达量显著升高 0.2 倍 ($P<0.05$)。由此可见，干扰 KRT17 可以提高黑色素合成相关基因的表达水平。

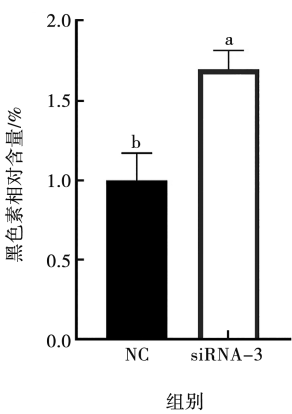


图 6 转染 siRNA-3 后黑色素细胞中的黑色素含量变化

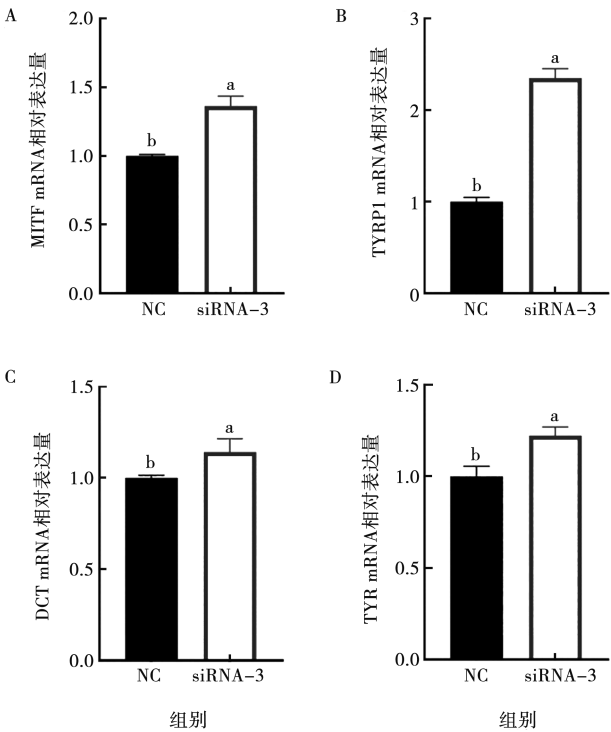


图 7 转染 siRNA-3 后黑色素细胞 MITF、TYRP1、DCT 和 TYR 的 mRNA 表达量变化

3 讨论

本研究从燕山绒山羊皮肤中成功分离、培养并鉴定了黑色素细胞，通过多巴染色、Masson-Fontana 黑色素染色、gp100 免疫组化等方法对黑色素细胞进行了鉴定，同时检测了黑色素合成相关基因 (MITF、TYR、TYRP1、DCT) 的 mRNA 表达水平。以此为模型，初步研究了 KRT17 在调控黑色素合成中的潜在

功能。研究结果显示,通过 siRNA 技术特异性干扰燕山绒山羊黑色素细胞中 KRT17 基因的表达,导致了细胞内黑色素含量显著上调(增加约 70%),同时,黑色素合成通路的关键调控基因,其 mRNA 转录水平均呈现不同程度的上调。这些结果表明,KRT17 在燕山绒山羊黑色素细胞中具有对黑色素合成起负向调控的作用。

本研究在黑色素细胞的分离培养和鉴定方面通过酶消化(Dispase II 和胰蛋白酶)分离耳后皮肤组织黑色素细胞,并利用多巴染色、Masson-Fontana 黑色素染色和黑色素特异性抗体(如 gp100)等进行鉴定,这些方法与小鼠、狐狸的黑色素细胞培养常规方法一致^[12-13]。

KRT 作为细胞骨架中间丝蛋白家族的重要成员,其传统功能主要被认为是维持上皮细胞的结构完整性和机械韧性^[16]。目前,越来越多报道指出 KRT 影响色素沉着。崔玉琮^[17]研究表明,KRT2 基因可通过刺激羊驼皮肤黑色素细胞黑色素合成相关信号通路,促进黑色素的合成。贾苇雪^[18]研究表明,KRT5 通过影响 Notch 配体 Jag1 干预下游因子而引起黑素细胞黑素生成及转运相关蛋白表达的异常。Xiong 等^[6]研究表明,在山羊黑色皮层皮肤中,KRT1 的表达则显著下调。本研究发现,干扰 KRT17 后黑色素合成的核心基因 MITF 的 mRNA 表达上调了 0.4 倍。MITF 能够直接启动 TYR、TYRP1 和 DCT 等一系列下游生色基因的转录,从而驱动黑色素体的成熟与黑色素的生成。本试验中,TYR、TYRP1 和 DCT 的 mRNA 表达分别上调 0.2、1.4 和 0.2 倍,与 MITF 的 mRNA 上调趋势一致,这为 KRT17 通过抑制 MITF 途径来调控黑色素合成这一分子逻辑链提供了理论基础。

有研究表明,KRT17 的 C-末端非螺旋结构域可以与多种信号蛋白相互作用,如 STAT3 和 Akt1,从而调节细胞增殖、分化和凋亡^[19-20]。例如,在肝癌细胞中,KRT17 可通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进细胞增殖^[20],在胃癌细胞中 KRT17 的下调会降低 Akt 和 mTOR 的磷酸化^[21]。在黑色素细胞中,PI3K/Akt 通路已被证实能够磷酸化并抑制 MITF 的活性与转录功能^[22-23]。由此推测,在正常的山羊黑色素细胞中,KRT17 可能作为支架蛋白,稳定或促进了某个上游抑制性信号复合体(如 PI3K/Akt 通路相关组分)的形成,从而对 MITF 途径施加持续的“分子刹车”。当 KRT17 被 siRNA 干扰后,该抑制性复合体的稳定性受损,“刹车”被释放,导致 MITF 及其下游靶基因表达上调,最终促进黑色素合成。在 KRT17 与色素沉着关系的研究中,本研究具有显著的创新性。目前,鲜见关于 KRT17 在黑色素细胞内

通过调控 MITF-TYR 轴影响黑色素合成的分子机制研究报道。本试验填补了 KRT17 在黑色素细胞功能研究中的空白。

4 结论

本试验成功分离培养了燕山绒山羊原代黑色素细胞,并揭示了 KRT17 作为燕山绒山羊黑色素细胞内黑色素合成的潜在负向调控因子,其功能通过抑制 MITF 信号通路来实现。研究结果为理解哺乳动物色素沉着的调控机制提供了新的视角,为未来通过生物技术手段优化家畜毛色、提升畜产品附加值开辟了新的路径。

参考文献:

- [1] 邱凤珍. 燕山绒山羊养殖现状与前景分析 [J]. 北方牧业, 2023 (23): 19.
- [2] 孙笑尉. BMP7 在毛色形成中的作用机制研究 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2020.
- [3] MARCEAU A, WANG J, IQBAL V, et al. Investigation of lncRNA in *Bos taurus* mammary tissue during dry and lactation periods [J]. Genes, 2023, 14 (9): 1789.
- [4] ZHANG X, YIN M, ZHANG L J. Keratin 6, 16 and 17-critical barrier alarmin molecules in skin wounds and psoriasis [J]. Cells, 2019, 8 (8): 807.
- [5] BENNETT D C, LAMOREUX M L. The color loci of mice: a genetic century [J]. Pigm Cell Res, 2003, 16 (4): 333-344.
- [6] XIONG Q, TAO H, ZHANG N, et al. Skin transcriptome profiles associated with black- and white-coated regions in Boer and Macheng black crossbred goats [J]. Genomics, 2020, 112 (2): 1853-1860.
- [7] BAXTER L L, WATKINS-CHOW D E, PAVAN W J, et al. A curated gene list for expanding the horizons of pigmentation biology [J]. Pigm Cell Melanoma Res, 2019, 32 (3): 348-358.
- [8] YANG S, JIAO D, SONG T, et al. Gene expression profiles of skin from cyclin dependent kinases 5-knockdown mice [J]. Anim Biosci, 2024, 37 (4): 567-575.
- [9] 樊蕊蕊. 毛囊源性黑色素细胞的分离、培养、鉴定 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [10] 白勇将, 谢莹, 韩红宇, 等. Tbx2 和 Tbx3 在不同毛色绵羊皮肤中的表达与定位 [J]. 中国兽医科学, 2023, 53 (7): 926-931.
- [11] 刘文艳, 李园, 蔡永强, 等. 黑色素细胞中 MITF 相关信号通路调控因子的研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2017, 49 (8): 125-128.
- [12] 马悦悦, 朱芷葳, 蓝吴涛, 等. 小鼠皮肤组织原代黑色素细胞培养条件的优化 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019 (17): 20-23, 182-183.
- [13] 洪支林. 北极白狐毛色季节性变化候选基因 WNT5A 的功能验证 [D]. 秦皇岛: 河北科技师范学院, 2024.
- [14] 蔡子旋. 不同毛色牛皮肤黑色素生成分析及黑色素细胞的分离鉴定 [D]. 合肥: 安徽农业大学, 2024.

- [15] 于凤姣, 刘开东, 宋伟杰, 等. miR-137 靶向 MITF 调控山羊黑色素细胞生成黑色素的机制研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2025, 56 (1): 189-200.
- [16] FU H, ZHAO W, JIANG L, et al. Single-nucleus and bulk RNA sequencing reveals the involvement of natural killer and CD8⁺ T cells in the progression of androgenetic alopecia [J]. J Inflamm Res, 2025, 18: 7033-7046.
- [17] 崔玉琮. KRT2 基因在不同毛色羊驼皮肤中的表达及其对黑色素生成影响的研究 [D]. 太谷: 山西农业大学, 2017.
- [18] 贾苇雪. 角质形成细胞 KRT5 通过 Notch 信号通路对黑素细胞功能影响的研究 [D]. 北京: 中国医学科学院, 2022.
- [19] CHEN X, NIE X, LIN X, et al. Regulation of keratinocyte barrier function and inflammatory response by the EGFR-STAT3 pathway: potential therapeutic implications of osimertinib and afatinib [J]. Cytokine, 2025, 185: 156802.
- [20] YANG Q, LIU L, ZHU Y, et al. Characterization of T cell proliferation-associated hepatocellular carcinoma subtypes, predictive signatures, and candidate targets [J]. J Gastrointest Oncol, 2025, 16 (3): 1127-1143.
- [21] CHIVU-ECONOMESCU M, DRAGU D L, NECULA L G, et al. Knockdown of KRT17 by siRNA induces antitumoral effects on gastric cancer cells [J]. Gastric Cancer, 2017, 20 (6): 948-959.
- [22] LI S, ZHANG L, CHEN J, et al. The tRNA-derived fragment tRF-5022a positively regulates melanogenesis [J]. Genes Dis, 2023, 10 (4): 1203-1205.
- [23] LEE Y, HYUN C G. Mechanistic insights into the ameliorating effect of melanogenesis of psoralen derivatives in B16F10 melanoma cells [J]. Molecules, 2022, 27 (9): 2613.

· 信息 ·

倡导健康养殖新理念 解读疫病防控新技术 欢迎订阅 2026 年《畜牧与兽医》

ISSN 0529-5130, CN 32-1192/S

《畜牧与兽医》月刊由教育部主管、南京农业大学主办。1935 年创刊, 由原中央大学畜牧兽医系编辑出版, 著名兽医学家罗清生教授首任主编。始终遵循“为社会服务, 为畜牧生产服务”和“理论与实践相结合, 普及与提高并举”的办刊宗旨。本刊连续入选《中文核心期刊要目总览》、“中国科技核心期刊”和“中国农林科技核心期刊”, 先后荣获华东地区优秀期刊、江苏期刊方阵双效期刊、全国高校优秀期刊、江苏省高校优秀科技期刊、全国畜牧兽医类优秀期刊等。

读者对象: 畜牧、兽医科技工作者和大专院校师生等。

主要内容: 主要刊登畜牧、兽医两学科各领域的研究报告、文献综述等。主要栏目有遗传繁育、动物营养、环境卫生、基础兽医、预防兽医、临床兽医和专题综述等。

征订办法: 本刊为月刊, 大 16 开, 定价: 28.00 元, 全年 12 期共 336.00 元。邮发代号: 28-42, 全国各地邮局均可订阅。邮局漏订者可直接汇款至本刊杂志社补订。

地 址: 江苏省南京市江北新区滨江大道 666 号南京农业大学行政楼 A320《畜牧与兽医》编辑部

邮 编: 211800

电 话: 025-84395701 (编辑部)

E-mail: muyizz@njau.edu.cn