

山羊 MC1R 和 agouti 基因遺傳歧異度調查⁽¹⁾

莊璧華⁽²⁾ 陳佳萱⁽³⁾ 張俊達⁽⁴⁾ 蘇安國⁽²⁾⁽⁵⁾

收件日期：102 年 7 月 30 日；接受日期：102 年 12 月 20 日

摘 要

本試驗旨在研究黑色素刺激荷爾蒙接受器 (melanocortin 1 receptor, MC1R) 基因及鼠灰色基因 (agouti gene) 等兩組毛色基因於臺灣山羊 (Taiwan native goat, T)、努比亞山羊 (Nubian, N)、臺灣山羊與努比亞山羊正交 (T ♀ × N ♂) 及其反交 (N ♀ × T ♂) 之後裔間之變異性。試驗結果顯示，MC1R 基因序列中有 5 處單一核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphism, SNP)，其中 3 組為同類置換 (transition)，分別位於 C183T、A676G 及 G701A，2 組為異類置換 (transversion)，分別位於 T748G 及 C801G 位置。比對 agouti intron 1 基因長度為 476 bp，序列結果顯示，僅部分努比亞山羊於 128 位置，多了一個胸腺嘧啶 (T)，其他山羊於 128 位置皆缺少胸腺嘧啶 (T) (T128del)。本試驗顯示，T128del 基因型，常見於黑色之山羊品種。agouti 部份 intron 3 (330 bp) 及 exon 4 (176 bp) 區段定序比對長度約 506 bp，本試驗僅於努比亞山羊發現 intron 3 之 5,344 位置有 (A5,344G) 同類置換，其單型多樣性 (haplotype diversity, Hd) 為 0.667，就本片段顯示努比亞山羊群擁有豐富的遺傳多樣性，推測是造成努比亞山羊毛色具豐彩性因素之一。

關鍵詞：山羊、黑色素刺激荷爾蒙接受器基因、鼠灰色基因。

緒 言

目前已知影響動物毛色的基因超過 150 個對偶基因，其分佈超過 90 個基因座，這些基因座轉譯的蛋白質包括如酵素、結構蛋白、轉譯調節、傳輸蛋白、接受器等，因此影響毛色外表型範圍極為廣泛 (Slominski *et al.*, 2004)。黑色素 (melanin) 與嗜銘黑色素 (phenomelanin) 會分別影響毛色之黑／棕色及紅／黃色之分佈和外表型之表現呈色，其主要調節基因為黑色素刺激荷爾蒙接受器基因 MC1R (melanocortin 1 receptor, MC1R) 及鼠灰色基因 agouti 基因 (Fontanesi *et al.*, 2009)。

黑色素刺激荷爾蒙接受器 (MC1R) 為 G protein-coupled receptor (GPCR)，其可在黑色素細胞或黑色素瘤細胞被發現。山羊 MC1R 基因係一不具內含子基因 (intron-less gene)，主要基因長度約有 954 bp，可轉譯出 7 個穿膜區域 (transmembrane domains, TM1 ~ 7)、4 個細胞內環圈 (intracellular loops, ILs) 及 3 個細胞內環圈 (extracellular loops, ELs) 所組成之接受器，本接受器可藉由與腦下垂體分泌之 α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) 結合，啟動黑色素細胞內黑色素之合成作用 (Suzuki *et al.*, 1996)。若基因序列發生突變，可影響黑色素之形成 (Slominski *et al.*, 2004)。在牛隻毛色基因研究發現，MC1R gene (即 extension locus) 至少可分為四種基因型態，其為 E、ED、E1 及 e 型態等，E 為野外型。一般而言，具顯性對偶基因 (E/E) 之毛色呈現黑色。ED/ED 同合子外觀如荷蘭乳牛之黑白色。E1/E1 同合子外觀呈灰色或棕色如布瑞克牛及加世康牛 (Aubrac / Gasconne)；e/e 外觀呈紅色或深桃木色如沙雷爾斯牛及夏洛利牛 (Salers / Charolaise)，其它如黑牛和牛 (Japanese black)、棕牛和牛 (Japanese brown) 及韓牛 (Hanwoo)，也具有類似的基因型，但無 e/e 型 (Sasazaki *et al.*, 2005)。

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2069 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所花蓮種畜繁殖場。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所遺傳育種組。

(4) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(5) 通訊作者，E-mail：aksu@mail.tlri.gov.tw。

鼠灰色基因 (agouti) 所合成之蛋白質 (agouti signaling protein, ASIP)，可抑制黑色素細胞與 α -MSH 之結合 (Jackson, 1994)，使黑色素細胞無法進行黑色素之合成，轉而合成嗜鉻黑色素，進而兩者之合成及轉換，形成帶狀或條紋的毛色 (Thiruvankadan *et al.*, 2008)。小鼠 agouti 基因位於第 2 號染色體，主要的作用係毛髮成長時，於毛囊中控制黑色素或嗜鉻黑色素合成。隱性的 agouti 基因，會產生黑色外觀，反之顯性基因則產生全黃色小鼠 (Bultman *et al.*, 1992)。其他 MC1R 及 agouti 基因或其蛋白質產物對於毛色或疾病之關聯性，亦可見於人類 (Kanetsky *et al.*, 2002)、兔子 (Fontanesi *et al.*, 2010)、綿羊 (Norris and Whan, 2008)、狗 (Wang *et al.*, 2013) 及狐狸 (Vage *et al.*, 1997) 等相關研究。

山羊 agouti 基因位於第 13 號染色體 (13q22) (Schibler *et al.*, 1998)。目前已知由 3 個內含子 (intron) 及 4 個外顯子 (exon) 所組成，可轉譯成 131 ~ 135 個胺基酸。前人研究發現山羊於 intron 1 之 128 位置缺失胸腺嘧啶 (T) (唐等, 2009)、exon 4 之 423 位置鳥糞嘌呤/胸腺嘧啶 (G/T) 變異，可能與黑毛色外觀有關聯性 (Tang *et al.*, 2008)。比較中國四種羊種 agouti 基因序列，可發現 17 組單核苷酸多態性 single nucleotide polymorphisms (SNPs)。其中 1 組位於 Intron 1、15 組位於 intron 3，1 組位於 exon 4，exon 2 及 3 則無多型性 (Li *et al.*, 2010)。Fontanesi *et al.* (2012) 在研究 agouti signaling protein (ASIP) 對普瑞蒙卡綿羊 (pramenka) 毛色影響時證實，agouti locus 會影響其外表毛色顯現。

臺灣黑山羊及努比亞山羊於臺灣山羊雜交選育歷史中，佔有極重要的角色。國人喜好黑毛色之畜禽肉的傳統已行之長久，因此畜禽具有黑毛色外表型是極為重要的育種選拔外觀評量標準之一。本試驗選擇 MC1R 與 agouti 等毛色基因做為目標基因進行研究，以了解影響毛色之基因特性及其影響性，做為未來的選育計畫之參考指標。

材料與方法

I. 試驗材料

逢機選擇花蓮種畜繁殖場飼養之臺灣黑山羊、臺灣黑山羊與努比亞正交後裔山羊 (T ♀ × N ♂)、反交後裔山羊 (N ♀ × T ♂) 及臺東種畜繁殖場努比亞山羊 (Nu)，抽取山羊頸靜脈血液。

II. 試驗方法

- (i) DNA 純化：利用 QIAamp® DNA Mini kit (Qiagen) 萃取試劑組，參照其使用手冊之操作流程抽取 genomic DNA，並冷凍保存於 -20°C 備用。
- (ii) 引子設計及聚合酶鏈鎖反應 (PCR)：參考 NCBI GenBank 已發表之山羊 MC1R 及 agouti 基因序列 (GeneBank accession no. FM212940, EF587236, DQ058664)。利用 Dnastar 軟體 Primer Select 程式，設計不同基因片段所使用的引子 (primer) 分別為 MC1R、agouti 之 intron 1 及 agouti 之 exon 4 等 3 組引子序列，其反應溫度及時間如表 1。加入 0.5 μ L 的 genomic DNA、10 pmol primer 兩組各 0.5 μ L、0.25 μ L 的 10 mM dNTP、2.5 μ L 的 10x buffer、0.125 μ L 的 5 U/ μ L Taq polymerase 及滅菌水，使總體積達 25 μ L。將目標基因片段如表 1 所述，於 PCR 反應槽中進行大量複製。PCR 最終產物於 1.2 % agarose gel、100 v 進行電泳分析，以溴化乙錠 (ethidium bromide, EtBr) 染色後置於紫外光下照相，確認是否有預期之基因片段長度。將 PCR 產物寄送至商業公司進行純化定序後，採用 Lasergene 套裝軟體 (Dnastar, Segman 6.1) 及 DnaSP v.5.0 (Librado and Rozas, 2009) 進行分析比對及統計。

表 1. 不同基因片段引子序列及反應黏合溫度

Table 1. Primers and time of PCR reaction profiles for different loci gene analyzed

Primers		Sequence 5' → 3'	Annealing temperature (°C)
MC1R	F	CAGCCACCCTCCCCCTCACAC	60.8
	R	CACCATCTCCCCAGCCTCCTCAT	
Agouti intron 1	F	TCATCAAAACCCAGCTAGCA	55.0
	R	GCCCTCCTGCTTTCTTTGT	
Agouti exon 4	F	AGCGGCCAAGTCCAGGGTTTCAGC	62.5
	R	AATAGCCGCGCCCACTCCGTTTCTC	

F: forward, R: reverse

結果與討論

I. PCR 產物膠體電泳

MC1R、agouti 之 intron 1 及 agouti 之 exon 4 的 PCR 最終產物長度預估分別為約 1,053 bp、548 bp 及 636 bp。於 agarose gel 進行電泳後，以溴化乙錠染色後，可於 500 及 1,000 bp marker 附近處觀察到所需之片段。

II. MC1R 基因序列分析

將 45 頭臺灣黑山羊 (T)、19 頭努比亞 (Nu)、30 頭正交山羊 ($T \text{♀} \times N \text{♂}$) 及 7 頭反交 F1 山羊 ($N \text{♀} \times T \text{♂}$) 之 MC1R 基因進行定序及比對。MC1R 序列與 NCBI GenBank FM212940.1 (阿爾卑斯山羊, camosciata delle alpi) 及 GenBank FJ773346 (努比亞山羊) 比對長度約 856 ~ 900 bp，相似度均為 99 %。101 頭山羊之 MC1R 序列分析中，共有 5 處 SNP，分別位於 183、676、701、748 及 801 位置，其中 3 組為同類置換，分別位於 183、676 及 701，2 組為異類置換，分別位於 748 及 801 (如表 2)。

表 2. 四組試驗山羊 MC1R 基因單一核苷酸多態型頻率

Table 2. Genotype frequencies of the MC1R SNPs in the four experimental goat breeds

SNP	Breed (no. of head)	Genotype frequency, %		
		CC	TT	CT
C183T Transition	Taiwan native goat (45)	60.0	6.7	3.3
	Multicolored Nubian (19)	73.7	0	26.7
	Black $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (22)	63.6	31.8	4.5
	Multicolored $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (8)	12.5	37.5	50
	Multicolored $N \text{♀} \times T \text{♂}$ (7)	42.9	0	57.1
A676G Transition		AA	GG	AG
	Taiwan native goat (45)	86.7	4.4	8.9
	Multicolored Nubian (19)	94.7	0	5.3
	Black $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (22)	81.8	0	18.2
	Multicolored $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (8)	100	0	0
G701A Transition	Multicolored $N \text{♀} \times T \text{♂}$ (7)	100	0	0
		GG	AA	GA
	Taiwan native goat (45)	100	0	0
	Multicolored Nubian (19)	84.2	10.5	5.3
	Black $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (22)	100	0	0
T748H Transversion	Multicolored $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (8)	100	0	0
	Multicolored $N \text{♀} \times T \text{♂}$ (7)	100	0	0
		TT	GG	TG
	Taiwan native goat (45)	63.6	6.8	29.5
	Multicolored Nubian (19)	78.9	0	21.1
C801G Transversion	Black $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (22)	59.1	4.5	36.4
	Multicolored $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (8)	37.5	25.0	37.5
	Multicolored $N \text{♀} \times T \text{♂}$ (7)	42.9	0	57.1
		CC	GG	CG
	Taiwan native goat (45)	100	0	0
	Multicolored Nubian (19)	94.7	0	5.3
	Black $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (22)	81.8	0	18.2
	Multicolored $T \text{♀} \times N \text{♂}$ (8)	50.0	0	50.0
	Multicolored $N \text{♀} \times T \text{♂}$ (7)	100	0	0

183、748 及 801 位置之核苷酸變異與 Fontanesi *et al.* (2009) 所分析變異位置相同，其中 C183T 同類置換為緘默突變 (silent mutation) (p. A61A)，即是核苷酸改變，但轉譯的胺基酸不變，對功能無影響，本試驗之山羊均表現此多態型。T748G 異類置換 (p. F250V) (苯丙胺酸 phenylalanine, F；纈胺酸 valine, V) 為錯義突變 (missense mutation)，該胺基酸位於第 6 個穿膜區域，本試驗之山羊亦均可發現此多態型，其他羊種波爾山羊 (Boer)、馬泰塞山羊 (Maltese) 及敘利亞山羊 (Derivata di siria) 等亦發現有此置換 (Fontanesi *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2006)。Fontanesi *et al.* (2009) 研究指出阿爾卑斯山羊 (Camosciata delle alpi) (棕色) 及薩能 (Saanen) 山羊 (白毛) 此單核型比例最高。以中央連結網狀圖 (median-joining network) 分析，該基因片段屬一般野生型基因，較易與其他基因如 agouti 有相互間的影響。

C801G 異類置換 (p. C267W) 為錯義突變，胺基酸 C267 半胱胺酸 (cysteine, C) 位於第 3 個細胞內環圈，該區係屬於較不會變異區域，半胱胺酸與位於 275 位置的半胱胺酸以雙硫鍵結合，使 MC1R 得以摺疊並插入細胞膜中。於實驗室內，將人類 MC1R 第 267 位置以甘胺酸 (glycine, G) 取代，將失去和 α -MSH 結合的能力 (Fontanesi *et al.*, 2009; Frändberg *et al.*, 2001; García-Borrón *et al.*, 2005)，至於色胺酸 (tryptophan, W) 之置換是否會對其結構或結合能力是否造成影響，仍待進一步研究。全黑之臺灣黑山羊及其與雜色之努比亞山羊反交後裔於此 801 位置為 CC 純合子。全黑之臺灣黑山羊及其雜色之努比亞山羊正交後裔，於該位置具有多態型，但本試驗結果與 Fontanesi *et al.* (2009) 所得之結果有所差異，此差異可能為其分析 C267W 變異結果，僅見於黑色莫西亞諾 (Murciano-Granadina) 山羊，棕色莫西亞諾山羊之基因並未出現變異，顯示色胺酸 (tryptophan, W) 置換，加強了 α -MSH 之結合能力及黑色素之合成。但由此本試驗初步推論，該變異點對山羊黑毛色之外顯性並無決定性之關聯性。

676 位置為腺嘌呤／鳥糞嘌呤 (A > G) 同類置換 (p. K226E)，位於第 3 個細胞內環圈，離胺酸 (lysine, K) 與穀胺酸 (glutamic acid, E) 之置換是否會對毛色有影響，此與其胺基酸所在位置有關。Kerje *et al.* (2003) 發現禽類 MC1R 基因離胺酸 K 係位於第 2 個穿膜區域區，此為重要功能區，置換後與羽毛呈黑羽有關。前人研究顯示，波爾羊具有 AA 純合子，身體外觀呈體白、頭及脖子呈紅色。具 GG 型之努比亞山羊，則身體毛色為紅棕色。雜合子 AG 或 GG 型，可能因突變使得部份功能喪失，因而產生全身為白毛之波爾山羊。部份白色羊種如薩能山羊等，其呈現 GG 純合子比例最高 (Wu *et al.*, 2006)。本試驗之山羊除正、反交後裔基因型全為 AA 純合子型 (homozygote)，其餘兩品種皆有雜合型。基因型以 AA 純合子所佔比例最高，毛色呈現多樣化，帶有 GG 純合子山羊毛色亦呈全黑色，惟該處突變是否影響黑色素之形成，仍有待研究。

701 位置鳥糞嘌呤／腺嘌呤 (G > A) 同類置換 (p. G234D)，胺基酸位於第 6 個穿膜區域與第 3 個細胞內環圈交界處附近，此核苷酸對變異僅在本試驗之努比亞山羊中發現，於波爾山羊亦有此變異點 (Wu *et al.*, 2006)。惟此核苷酸對變異是否影響山羊具有紅棕毛色之外表型，需進一步研究探討。

III. agouti 基因序列分析

本試驗選擇 13 頭臺灣黑山羊、7 頭努比亞山羊、11 頭具黑毛色兩品種之正交山羊及 6 頭雜色之兩品種反交山羊進行 agouti 基因定序及比對。與 NCBI GenBank EF587236.2 定序比對 agouti 之 intron 1 長度約 476 bp，相似度為 99%。經分析本試驗之山羊序列結果顯示，除了僅部份努比亞山羊 (57%，4/7) 於 128 位置，多了一個胸腺嘧啶 (T) (如圖 1A)，其中雜合子佔 75% (3/4)，純合子佔 25% (1/4)，其他組山羊於 128 位置皆佚失胸腺嘧啶 (T) (T128 del)。唐等人 (2009) 對於中國主要 10 種地方山羊品種研究顯示，胸腺嘧啶 (T) 佚失之基因型，常見於黑色山羊品種 (87.92%)，具 TT 基因型則常見於棕褐色山羊 (77.41%)，雜合子型則以白色山羊品種佔優勢 (76.14%)。本試驗以黑毛色系為主之臺灣黑山羊及其與努比亞正反交之後裔，其 agouti 之 intron 1 均為 T128 佚失基因型，與前人研究結果雷同。而具 T 雜合子型之努比亞山羊，則身上色斑則有白毛出現，具 TT 基因型之努比亞山羊則為黑棕色外觀 (圖 1B)，因而推測該位點對山羊毛色形成可能具關聯性。

agouti 部份 intron 3 (330 bp) 及 exon 4 (176 bp) 區段定序比對長度約 506 bp，本試驗之山羊序列與 NCBI GenBank EF587236.2 比較相似度為 99%。分析結果顯示，僅於努比亞山羊發現 intron 3 之 5,344 位置有腺嘌呤／鳥糞嘌呤 (A5,344G) 同類置換 (如圖 2)，其餘 3 組山羊於 5,344 位置為 A 純合子。Li 等 (2010) 研究顯示，於 intron 3 可發現 15 個變異點，本試驗 A5344G 即為其變異處之一。分析本試驗之努比亞山羊群，其單型多樣性 (haplotype diversity, Hd) 為 0.667，顯示本片段之於努比亞山羊群擁有

豐富的遺傳多樣性。



圖 1. agouti 之 intron 1 基因 T128 缺失處及雜合子／純合子毛色外觀。

- (A) agouti intron 1 之 T128 位置缺胸腺嘧啶 T。
 (B) 努比亞山羊 T 缺失雜合子型及 TT 非缺失純合子外觀。

Fig. 1. The T128 deletion in agouti intron 1 gene and color phenotypes of heterozygote and homozygote.

- (A) The T128 deletion of agouti intron 1.
 (B) The appearances of Nubia goat having T del heterozygote and TT homozygote.

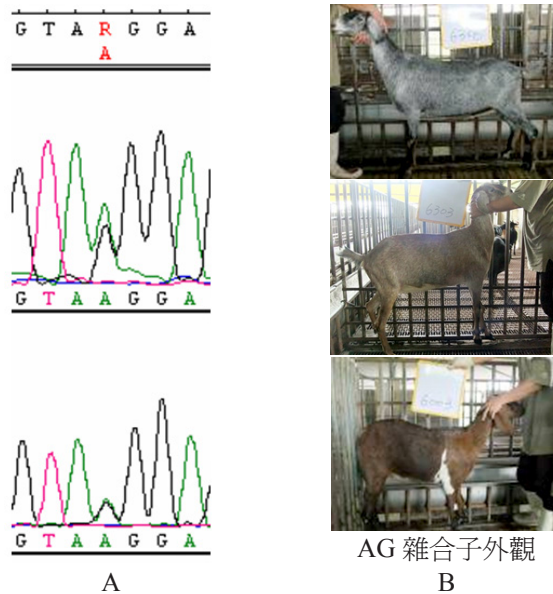


圖 2. agouti intron 3 之 A5,344 位置腺嘌呤／鳥糞嘌呤同類置換及雜合子毛色外觀。

- (A) agouti intron 3 之 A5,344G 同類置換。
 (B) 雜合子外觀。

Fig. 2. The transition pair of A5,344G in agouti intron 3 and color phenotype of heterozygote.

- (A) The A5,344G transition site in agouti intron 3.
 (B) The appearance of Nubia goat with heterozygote.

agouti exon 4 分析結果，試驗羊群並未發現如 Tang *et al.* (2008) 研究中國 12 種山羊品種時，於 exon 4 之 423 位置 (或 5,700 位置) 所發現之胸腺嘧啶／鳥糞嘧啶變異。然而參考其研究結果發現，具黑毛色之羊種於 423 位置處以 TT 純合子比例為最高 (73.68 ~ 97.18%)，白毛色羊種以 TG 雜合子比例 69.23% 最高。本試驗之臺灣黑色山羊之 TT 純合子比例高達 100%，推測可能原因為先民及本場，長久以來以人為手段選留具黑毛色外表型之臺灣黑山羊及其後裔，致使臺灣黑山羊有極高之 TT 純合子比例，但由於各試驗羊群數少，仍需再進行研究及累積資料。

結論與建議

影響毛色形成之因素很多，本試驗將臺灣山羊、努比亞山羊及其雜交後裔之 MC1R 及 agouti 基因進行分析，初步瞭解該等基因之多樣性分佈，由於本試驗所採樣之臺灣山羊及努比亞山羊的毛色外觀均無白色及紅色，因此本試驗未發現具決定性之變異點。未來可針對較具爭議性之變異點如 MC1R 基因之 606 及 801 位置及 agouti 基因 intron 1 之 128 及 exon 4 之 423 位置，增加採樣山羊外觀毛色之多樣性，使資料更具代表性。此外，另可朝其他與山羊毛色表現之相關基因，如 POMC、tyrosinase、KIT 及 KITLG 等基因進行研究。

誌 謝

本試驗承蒙行政院農業委員會畜產試驗所臺東種畜繁殖場協助採血等事宜，特此致謝。

參考文獻

- 唐春娟、李祥龍、周榮豔、李蘭會、馮付軍、李東鋒、王建濤。2009。山羊 Agouti 基因第 1 內含子 T128 缺失在中國主要地方山羊品種中的變異。畜牧獸醫學報 40(3)：320-326。
- Bultman, S. J., E. J. Michaud and R. P. Woychik. 1992. Molecular characterization of the mouse agouti locus. *Cell* 71: 1195-1204.
- Fontanesi, L., F. Beretti, V. Riggio, S. Dall'Olio, E. G. Gonzalez, R. Finocchiaro, R. Davoli, V. Russo and B. Portolano. 2009. Missense and nonsense mutations in melanocortin 1 receptor (MC1R) gene of different goat breeds: association with red and black coat colour phenotypes but with unexpected evidences. *BMC Genet.* 10:47.
- Fontanesi, L., L. Forestier, D. Allain, E. Scotti, F. Beretti, S. Deretz-Picoulet, E. Pecchioli, C. Vernesi, T. J. Robinson, J. L. Malaney, V. Russo and A. Oulmouden. 2010. Characterization of the rabbit agouti signaling protein (ASIP) gene: transcripts and phylogenetic analyses and identification of the causative mutation of the nonagouti black coat colour. *Genomics* 95: 166-175.
- Fontanesi, L., A. Rustempasic, M. Brka and V. Russo. 2012. Analysis of polymorphisms in the agouti signalling protein (ASIP) and melanocortin 1 receptor (MC1R) genes and association with coat colours in two pramenka sheep types. *Small Rumin. Res.* 105: 89-96.
- Frändberg, P. A., M. Doufexis, S. Kapas and V. Chhajlani. 2001. Cysteine residues are involved in structure and function of melanocortin 1 receptor: substitution of a cysteine residue in transmembrane segment two converts an agonist to antagonist. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281: 851-857.
- García-Borrón, J. C., B. L. Sánchez-Laorden and C. Jiménez-Cervantes. 2005. Melanocortin-1 receptor structure and functional regulation. *Pigment Cell Res.* 18: 393-410.
- Jackson, I. J. 1994. Molecular and development genetics of mouse coat colour. *Annu. Rev. Genet.* 28: 89-217.
- Kanetsky, P. A., J. Swoyer, S. Panossian, R. Holmes, D. Guerry and T. R. Rebbeck. 2002. A polymorphism in the agouti signaling protein gene is associated with human pigmentation. *Am. J. Hum. Genet.* 70: 770-775.

- Kerje, S., J. Lind, K. Schütz, P. Jensen and L. Andersson. 2003. Melanocortin 1-receptor (MC1R) mutations are associated with plumage colour in chicken. *Anim. Genet.* 34: 241-248.
- Li, X. L., J. W. Zhao, C.J. Tang, R. Y. Zhou, G. Zheng, L. H. Li and X. L. Guo. 2010. Sequencing of part of the goat agouti gene and SNP identification. *Biochem. Genet.* 48: 152-156.
- Librado, P. and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
- Norris, B. J. and V. A. Whan. 2008. A gene duplication affecting expression of the ovine ASIP gene is responsible for white and black sheep. *Genome Res.* 18: 1282-1293.
- Sasazaki, S., M. Usui, H. Mannen, C. Hiura and S. Tsuji. 2005. Allele frequencies of the extension locus encoding the melanocortin-1 receptor in Japanese and Korean cattle. *J. Anim. Sci.* 172(2): 129-132.
- Schibler, L., D. Vaiman, A. Oustry, C. Giraud-Delville and E. P. Cribiu. 1998. Comparative gene mapping: a finescale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. *Genome Res.* 8: 901-915.
- Slominski, A., D. J. Tobin, S. Shibahara and J. Wortsman. 2004. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol. Rev.* 84: 1155-1228.
- Suzuki, I., R. D. Cone, S. Im, J. Nordlund and Z. A. Abdel-Malek. 1996. Binding of melanotropic hormones to the melanocortin receptor MC1R on human melanocytes stimulates proliferation and melanogenesis. *Endocrino.* 137: 1627-1633.
- Tang, C. J., R. Y. Zhou, X. L. Li, J. W. Zhao, L. H. Li, F. J. Feng, D. F. Li, J. T. Wang, X. L. Guo and J. F. Keng. 2008. Variation of 423G>T in the agouti gene exon 4 in indigenous Chinese goat breeds. *Biochem. Genet.* 46: 770-780.
- Thiruvankadan, A. K., N. Kandasamy and S. Panneerselvam. 2008. Coat colour inheritance in horses. *Livest. Sci.* 117: 109-129.
- Vage, D. I., D. Lu, H. Klungland, S. Lien, S. Adalsteinsson and R. D. Cone. 1997. A non-epistatic interaction of agouti and extension in the fox, *Vulpes vulpes*. *Nat. Genet.* 15: 311-315.
- Wang, G. D., L. G. Cheng, R. X. Fan, D. M. Irwin, S. S. Tang, J. G. Peng and Y. P. Zhang. 2013. Signature of balancing selection at the MC1R gene in kunming dog populations. *PLoS ONE* 8(2): e55469.
- Wu, Z., X. Li, Y. Liu, Y. F. Gong, Z. Z. Liu, X. J. Wang, T. R. Xin and Q. Ji. 2006. The red head and neck of boer goats may be controlled by the recessive allele of the MC1R gene. *Anim. Res.* 55: 313-322.