

牦牛不同组织 SREBP-1 基因表达差异分析

袁锦莹, 孙万成, 罗毅皓*, 谢凤莲

(青海大学农牧学院, 青海 西宁 810016)

摘要:在不同季节分别采集青海省祁连县、大通县和湟中县牦牛的肝脏、肾脏和结肠,提取 Total RNA,在逆转录聚合酶的作用下生成 cDNA,利用 Real-time PCR 检测牦牛甾醇类调控元件结合蛋白 1(SREBP-1)基因 mRNA 的表达水平。结果显示,牦牛不同组织中 SREBP-1 基因相对表达量由大到小顺序为,肝脏、肾脏、结肠。SREBP-1 基因在不同季节中除了 2016 年春季的牦牛,其他的均以肝脏样品中的 SREBP-1 mRNA 相对定量拷贝数最高。不同季节间 SREBP-1 基因在 2015 年春季和 2016 年春季中相对表达量差异极显著。3 个组织间 SREBP-1 基因在结肠和肝脏中相对表达量差异呈极显著($P < 0.01$),在肾脏和肝脏中相对表达量差异显著($P < 0.05$)。

关键词:牦牛; 甾醇类调控元件结合蛋白; 实时定量 PCR

中图分类号:S823.8⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-9111(2019)01-0001-06

青海特殊的高原气候赋予了牦牛乳高于普通牛乳的营养价值。牦牛乳的脂肪和蛋白质的含量较普通牛乳高。牦牛乳的乳脂率平均达 7.5%,高于普通牛乳,蛋白质含量平均达 5.2%,也高于普通牛乳,且干物质总量也高于普通牛乳^[1]。牦牛乳是一种高脂高蛋白的天然浓缩乳,是乳制品加工和制作的优良原料乳^[2-4]。

青海牦牛是生长在青藏高原地区的一种稀有牛种,这里海拔高,气候寒冷,因此造就了牦牛不同于普通牛种的独特体质,牦牛肉脂肪含量不高,并含有大量的营养成分和丰富的微量元素,特别是含有人体必需的脂肪酸,对人体的健康是非常重要的^[5-8]。加之它们常年以这一地区的天然牧草为食,所产的牦牛奶具有独特的营养^[9]。

在脂肪组织中,脂肪生成相关基因的表达水平受到许多转录因子的调控^[10]。有研究指出,甾醇类调控元件结合蛋白(SREBP)是一种核转录因子,在酯类合成中,尤其是在固醇类和脂肪酸合成中起到重要作用^[11]。SREBP 是物体体内脂肪合成的一个极重要的调节因子,通过调节动物体内与脂肪生成相关的酶(生脂酶)的基因转录水平而调节这些酶的活性,从而控制体内脂肪合成。

已有研究证明,SREBP-1 是哺乳动物肝脏脂

肪生成基因的主要调节者,能调节脂肪酸、甘油三酯和胆固醇合成的 30 多个基因的表达^[12]。也有研究证实,SREBP-1 是脂肪酸合成相关酶基因的上游调节元件^[13]。金世杰等^[14]研究者在对黄牛中 SCD1 与 SREBP-1 的协同表达研究后发现,SREBP-1 可激活 SCD1 脂肪酸合成酶,导致脂肪酸合成增加,造成肝脏脂质蓄积。

青海是全国五大牧区之一,是牦牛的主要产区,目前全省有牦牛约 500 万头。牦牛是青海的特色,具有其独特的营养价值。而关于改善青海牦牛肉品质的研究鲜有报道,为此,本研究采集青海省不同地区不同季节的牦牛结肠、肾脏和肝脏 3 种组织的样品,提取 Total RNA,在逆转录聚合酶的作用下生成 cDNA,以逆转录产物为模板,利用 Real-time PCR 检测牦牛甾醇类调控元件结合蛋白 1(SREBP-1)基因 mRNA 的表达水平,旨在为进一步改善牛肉品质提供可借鉴的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

采集不同季节不同地区的牦牛肝脏、肾脏和结肠,于冻存管中投入液氮罐保存备用;RNAprep Pure Tissue Kit 试剂盒,购自天根生物科技(北京)有限公

收稿日期:2018-10-15 修回日期:2018-11-06

基金项目:青海省科技厅项目(2018-ZJ-728,2017-ZJ-711)

作者简介:袁锦莹(1994-),女,青海西宁人,硕士研究生,主要从事食品加工与安全研究。E-mail:864322306@qq.com

* 通讯作者:罗毅皓(1976-),男,副教授,主要从事功能食品研究。E-mail:291649347 @qq.com

司; TaKaRa PrimeScript® RT reagent Kit 试剂盒, 购自宝生物工程(大连)有限公司; SYBR® Premix Ex Taq™ II, 购自宝生物工程(大连)有限公司; DNA 聚合酶, 购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 仪器与设备

低温离心机(上海沪粤明科学仪器有限公司); AlphaTM Unit Block Assembly for DNA Engine® System (BIO-RAD); 电泳仪 BG-Power 300 (BAYGENE BIOTECH COMPANY LIMITED); 凝胶成像分析仪 WD-9413A(北京市六一仪器厂); iQTM 5 Multicolor Real-time PCR Detection system(BIO-RAD)。

1.3 方法

1.3.1 引物设计 引物(表 1)是由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

表 1 引物序列信息

引物名称	引物类型	序列信息(5'-3')
SREBPF	forward	CCCTGACAGCTCATTGA
SREBPR	reverse	TGCGCCCACAAGGA
β -actinF	forward	GAGCTCAAGCAAAGAGGC
β -actinR	reverse	CGTGTAGAGGTGGGTGCC

1.3.2 牦牛肝脏、肾脏及总 RNA 的提取 使用 RNeasy Pure Tissue Kit 试剂盒分别从新鲜或超低温冻存的肝脏样品中提取总 RNA, 最后进行 RNA 纯度与浓度检测, 并用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。

1.3.3 RNA 凝胶电泳 根据样品量选择合适大小的凝胶, 表 2 中的配方可按相应比例扩大^[15]。

表 2 电泳胶配方

试剂名称	配法用量
琼脂糖	0.2 g(1.0%)
1×TAE 溶液	20 mL(TAE 原试剂使用 ddH ₂ O 按照 1:50 稀释所得)
RNAiso Plus	1 μ L

1.3.4 不同季节牦牛肝脏、肾脏及结肠 cDNA 的合成 cDNA 的合成以从 2015 年春季祁连县、2015 年秋季大通县、2016 年春季湟中县采集的牦牛肝脏、肾脏和结肠中提取的 Total RNA 为模板, 按试剂盒推荐方法进行操作。

1.3.5 不同季节牦牛不同组织的实时定量 PCR 以合成的 cDNA 为模板, 按试剂盒推荐方法进行操作。

1.3.6 荧光定量 PCR 按试剂盒推荐方法进行操作, 按表 3 中的组分配制反应液(反应液配制在冰上进行), 荧光定量时, β -actin 作为内参进行实时定量 PCR。

表 3 荧光定量反应液

试剂	使用量/ μ L
SYBR® Premix Ex Taq™ II (2×)	12.5
PCR Forward Primer(10 μ mol/L)	1.0
PCR Reverse Primer(10 μ mol/L)	1.0
DNA 模板	2.0
dH ₂ O(灭菌蒸馏水)	8.5
Total	25

1.3.7 统计方法 利用 SPSS 16.0 软件分析统计组的差异性, 采用最小显著差数法, 计量数据用平均值±标准差, 采用 *t* 检验, $P<0.05$ 表示脂肪酸差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 提取的 RNA 检测

从 RNA 电泳图(图 1)可以看出, 上方的 28S 和下方 18S 条带都很清晰, 且 28S 约为 18S 条带亮度的 2 倍, 说明提取的 RNA 完整性良好。

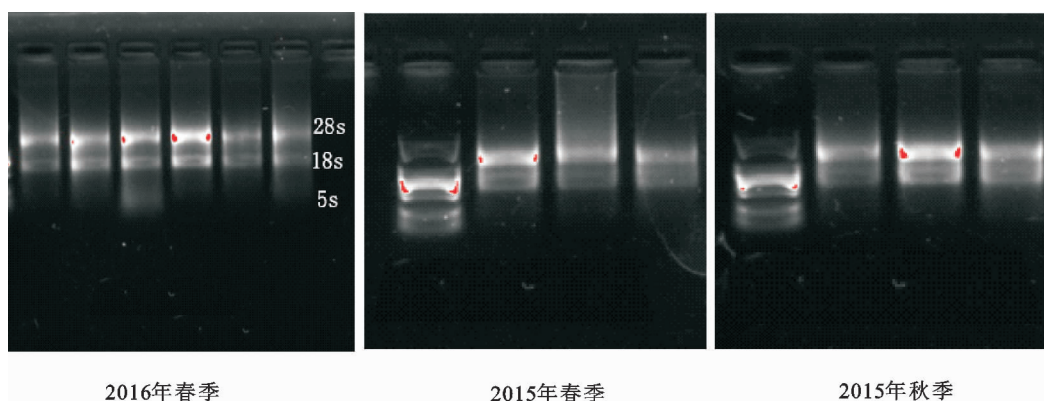


图 1 不同样品 RNA 电泳图

2.2 牦牛肝脏、肾脏及结肠 SREBP-1 基因 cDNA 的合成

图 2 为由 3 个组织中提取的 RNA 反转录后扩增的结果图。利用在编码区两侧设计的牦牛 SREBP-1 引物扩增 cDNA,获得约 150 bp 的 DNA 片段。

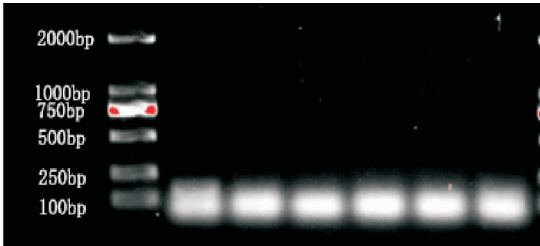


图 2 样品 SREBP-1 引物扩增结果

2.3 SREBP-1 基因 PCR 荧光定量

由图 3 可以看出,SREBP-1 基因在 2015 年春季祁连县、2015 年秋季大通县和 2016 年春季湟中县的荧光定量结果,溶解曲线只有 1 个峰,说明其两对引物的特异性强,没有引物二聚体和非特异性产物,所以进行荧光定量可以真实地反映出牦牛不同组织中引物 mRNA 的表达。

采用相对定量^[16],通过比较阈值法($2^{-\Delta\Delta Ct}$)进行相对定量^[17]。

Ct 值是扩增 DNA 的量达到阈值时候的循环次数^[18]。由表 4、表 5 和表 6 可以看出,Ct 值与起始模板的关系研究表明,每个模板的 Ct 值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系,起始拷贝数越多,Ct 值越小。

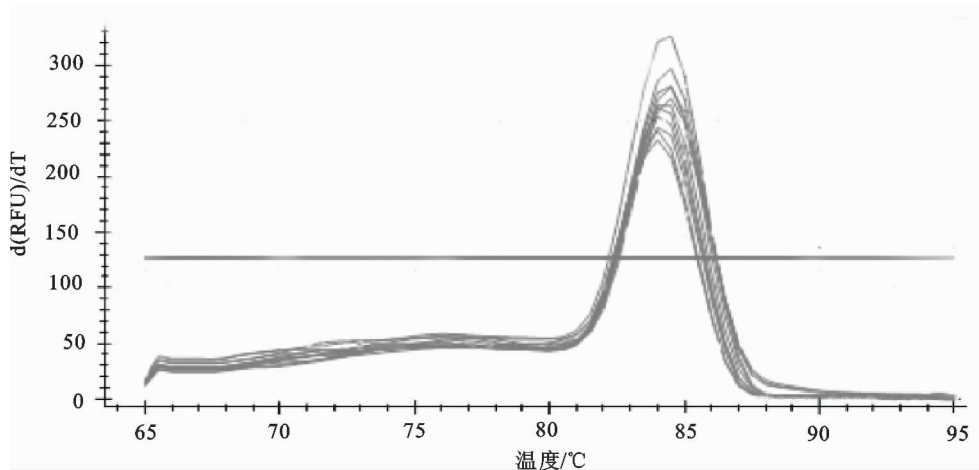


图 3 SREBP-1 的溶解曲线分析

表 4 2015 年春季祁连县 SREBP-1 基因荧光定量

样品	牦牛 SREBP 引物反应 Ct 值				内参 β -actin 反应 Ct 值				ΔCt	ΔCt 平均值
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值		
肾脏 1	27.07	28.31	27.11	27.50±0.575	19.71	21.24	23.52	21.49±1.919	6.01	
肾脏 2	27.53	27.50	27.62	27.55±0.062	21.43	20.66	20.10	20.73±0.669	6.82	6.34
肾脏 3	28.37	28.10	28.10	28.19±0.156	21.94	21.17	22.89	22.00±0.760	6.19	
结肠 1	28.54	26.86	26.37	27.26±1.065	18.27	18.41	18.40	18.36±0.078	8.90	
结肠 2	29.15	29.34	29.04	29.18±0.147	21.64	21.18	21.11	21.31±0.289	7.87	8.13
结肠 3	28.95	27.62	27.76	28.11±0.925	20.58	20.24	20.66	20.49±0.317	7.62	
肝脏 1	26.19	26.48	25.28	25.98±0.756	25.29	24.42	23.42	24.38±0.937	1.60	
肝脏 2	26.24	25.90	25.53	25.89±0.353	20.78	21.50	23.77	22.01±1.564	3.88	1.90
肝脏 3	21.53	21.55	21.45	21.51±0.053	21.59	21.16	21.12	21.29±0.260	0.22	

表 5 2015 年秋季大通县 SREBP-1 基因荧光定量

样品	牦牛 SREBP 引物反应 C_t 值				内参 β -actin 反应 C_t 值				ΔC_t	ΔC_t 平均值
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值		
肾脏 1	27.68	26.35	27.00	27.01 ± 0.665	18.95	18.99	22.08	20.01 ± 1.797	7.00	
肾脏 2	28.10	28.78	28.79	28.56 ± 0.517	22.60	21.16	21.56	21.77 ± 0.812	6.79	6.93
肾脏 3	26.68	27.15	27.40	27.08 ± 0.365	20.01	20.11	20.15	20.09 ± 0.072	6.99	
结肠 1	27.54	26.79	26.09	26.81 ± 0.721	17.22	17.98	19.58	18.26 ± 1.205	8.55	
结肠 2	26.92	26.82	27.19	26.98 ± 0.191	20.18	20.91	21.65	20.91 ± 0.473	6.07	6.72
结肠 3	25.47	28.09	27.33	26.97 ± 1.348	21.65	21.58	21.02	21.42 ± 0.254	5.55	
肝脏 1	26.75	31.98	29.86	29.53 ± 2.603	23.11	25.34	25.52	24.66 ± 1.343	4.87	
肝脏 2	25.20	25.12	25.03	25.12 ± 0.084	20.11	20.08	26.15	22.11 ± 3.496	3.01	4.70
肝脏 3	25.56	25.71	25.38	25.55 ± 0.164	19.61	19.05	19.04	19.23 ± 0.324	6.32	

表 6 2016 年春季湟中县 SREBP-1 基因荧光定量

样品	牦牛 SREBP 引物反应 C_t 值				内参 β -actin 反应 C_t 值				ΔC_t	ΔC_t 平均值
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值	第 1 次	第 2 次	第 3 次	平均值		
肾脏 1	29.16	29.21	29.56	29.31 ± 0.213	22.23	22.17	22.66	22.35 ± 0.265	6.96	
肾脏 2	29.38	29.52	29.40	29.43 ± 0.074	22.83	22.88	23.10	22.94 ± 0.142	6.49	6.16
肾脏 3	29.54	27.81	28.77	28.71 ± 0.966	24.67	23.34	23.02	23.68 ± 0.137	5.03	
结肠 1	30.07	30.96	30.77	30.81 ± 0.135	22.05	21.50	21.81	21.79 ± 0.277	9.02	
结肠 2	28.38	28.40	28.28	28.35 ± 0.067	18.77	21.29	19.20	19.75 ± 1.347	8.60	8.45
结肠 3	29.06	28.39	28.38	28.61 ± 0.349	19.54	20.30	21.79	20.54 ± 0.769	7.74	
肝脏 1	30.19	30.14	30.22	30.19 ± 0.042	23.18	23.38	23.24	23.27 ± 0.103	6.92	
肝脏 2	26.43	26.49	26.26	26.39 ± 0.121	18.58	18.70	18.55	18.61 ± 0.082	7.78	6.21
肝脏 3	25.85	24.89	24.43	25.06 ± 0.663	20.04	21.67	21.66	21.12 ± 0.033	3.94	

将肝脏样品作为对照样品,将对照组的 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值设为 1 进行阈值比较。

根据公式:

$$2^{-\Delta\Delta C_t} =$$

$$2^{-[(\text{实验组 SREBP-1} - \text{实验组 } \beta\text{-ACTIN } C_t) - (\text{对照组 SREBP-1} - \text{对照组 } \beta\text{-ACTIN } C_t)]}$$

(1)

由公式(1)计算得,

表 4,2015 年春季:

$$\text{肾脏}, 2^{-(6.34-1.90)} = 0.046$$

$$\text{结肠}, 2^{-(8.13-1.90)} = 0.013$$

表 5,2015 年秋季:

$$\text{肾脏}, 2^{-(6.93-4.70)} = 0.213$$

$$\text{结肠}, 2^{-(6.72-4.70)} = 0.247$$

表 6,2016 年春季:

$$\text{肾脏}, 2^{-(6.16-6.21)} = 1.035$$

$$\text{结肠}, 2^{-(8.45-6.21)} = 0.212$$

由上述结果可以得出,SREBP-1 mRNA 相对定量的拷贝数。

通过对 SREBP-1 的 DNA 重复 3 次进行荧光定量 PCR 检测法,测出它们的平均 ΔC_t 值,再根据比较阈值法进行相对定量的结果。

由图 4 可以看出,不同季节中除了 2016 年春季湟中县的牦牛,其他的均以肝脏样品中的 SREBP-1 mRNA 相对定量拷贝数最高。2015 年春季祁连县牦牛 SREBP-1 基因相对表达量由大到小为:肝脏、肾脏、结肠;2015 年秋季大通县牦牛 SREBP-1 基因相对表达量由大到小为:肝脏、结肠、肾脏;2016 年春季湟中县牦牛 SREBP-1 基因相对表达量由大到小为:肾脏、肝脏、结肠。

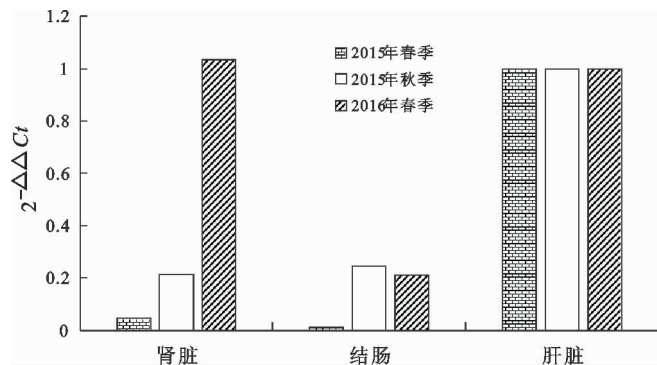


图 4 不同季节 SREBP-1 基因在牦牛不同组织中相对表达量

2.4 不同季节 SREBP-1 基因相对表达量相关性分析

从表 7 中可以看出,SREBP-1 基因在 2015 年春季祁连县和 2016 年春季湟中县中相对表达量差异极显著,在 2015 年秋季大通县和 2016 年春季湟中县中相对表达量差异不显著,并在 2015 年春季祁连县和 2015 年秋季大通县中相对表达量差异不显著。

表 7 3 个季节 SREBP-1 相对表达量相关性分析

SREBP-1 基因	201504	201509	201604
201604	0.006 **	0.058	1.000
201509	0.286	1.000	
201504	1.000		

注: * 表示差异显著 $P<0.05$, * * 表示差异极显著 $P<0.01$ 。下同。

2.5 SREBP-1 基因在牦牛不同组织中的相对表达量

由图 5 可以看出,牦牛不同组织中 SREBP-1 基因相对表达量由大到小顺序为,肝脏、肾脏、结肠。

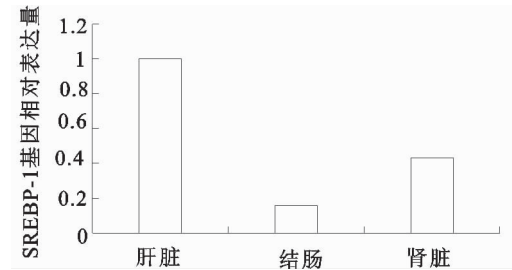


图 5 SREBP-1 基因在牦牛不同组织中的相对表达量

2.6 3 个组织 SREBP-1 基因相对表达量相关性分析

从表 8 中可以看出,SREBP-1 基因在结肠和肝脏中相对表达量差异极显著,在肾脏和肝脏中相对表达量差异显著,而在结肠和肾脏中相对表达量差异则不显著。

SREBP-1 的作用主要包括调控脂肪细胞的分化,以及类固醇和脂肪酸的合成过程。SREBP-1

基因可以直接调节脂肪沉积,还可参与脂肪生成相关基因的表达水平的调控,间接调节脂肪的生成。目前对 SREBP-1 基因的研究也主要集中在猪、鸡、兔上。例如,2001 年,Gondret 等使用 Northern 印迹法对 SREBP-1 mRNA 猪、鸡、兔的组织中的表达量进行检测分析,预测 SREBP-1 基因在肝脏和脂肪这两种组织间相对表达量的高低^[19]。

SREBP-1 mRNA 在兔的肝脏以及脂肪组织中从表达水平上看几乎保持在一个水平,在鸡的脂肪组织中 SREBP-1 mRNA 的表达水平比在肝脏中低了近乎 3 倍左右^[20]。除此之外,SREBP-1 信号转导途径在脂肪代谢性疾病研究中起着重要的作用^[21]。本研究检测 SREBP-1 基因在牛的组织中的相对表达量,发现 SREBP-1 基因在青海牦牛的 3 个组织中均有表达,但在 2015 年春季祁连的牦牛结肠和肾脏中的表达均不高,其中,SREBP-1 基因在 2016 年春季湟中的牦牛肾脏中表达最高。预测不同生长环境和不同季节也会对 SREBP-1 基因的表达产生一定的影响。

表 8 3 个组织 SREBP-1 相对表达量相关性分析

组织	结肠	肾脏	肝脏
肝脏	0.001 **	0.020 *	1.000
肾脏	0.145	1.000	
结肠	1.000		

3 结 论

青海牦牛不同组织中 SREBP-1 基因相对表达量为:肝脏>肾脏>结肠。3 个组织中 SREBP-1 基因在结肠和肝脏中相对表达量差异极显著,在肾脏和肝脏中相对表达量差异显著,而在结肠和肾脏中相对表达量差异则不显著。不同季节中除了 2016 年春季湟中县的牦牛,其他的均以肝脏样品中的 SREBP-1 mRNA 相对定量拷贝数最高。2015

年春季祁连县牦牛 SREBP-1 基因相对表达量由大到小为,肝脏、肾脏、结肠;2015 年秋季大通县牦牛 SREBP-1 基因相对表达量由大到小为,肝脏、结肠、肾脏;2016 年春季湟中县牦牛 SREBP-1 基因相对表达量由大到小为,肾脏、肝脏、结肠。

不同季节间 SREBP-1 基因在 2015 年春季祁连县和 2016 年春季湟中县中相对表达量差异极显著,在 2015 年秋季大通县和 2016 年春季湟中,2015 年春季祁连县和 2015 年秋季大通县中相对表达量差异则不显著。

参考文献:

- [1] 来得财,马黎明. 青海牦牛与其他肉牛产肉性能及肉的营养品质对比分析[J]. 黑龙江畜牧兽医,2012,4(2):70-71.
- [2] 李海梅,何胜华,刘天一,等. 牦牛乳物理化学特性的研究进展[J]. 中国乳品工业,2009,37(8):35-40.
- [3] 董爱军,杨鑫,张英春,等. 高效液相色谱法分离测定牦牛乳中的 8 种蛋白质[J]. 分析测试学报,2012,31(8):972-976.
- [4] 张琦,薛璐,胡志和. 传统酥油研究进展[J]. 食品工业科技,2013,34(8):361-364.
- [5] 姬秋梅. 中国牦牛品种资源的研究进展[J]. 自然资源学报,2001,16(6):564-568.
- [6] 李海朝,贾普友,张辉. 不同酥油理化特性及脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂,2013,38(8):93-94.
- [7] 孙美青,马莺,程金菊. 牦牛酥油理化特性研究[J]. 中国乳品工业,2016,44(3):9-19.
- [8] 周小玲,刘书杰,崔洪洪,等. 牦牛酥油与普通奶油中脂肪酸组成与含量的比较[J]. 中国饲料,2008(23):21-26.
- [9] 张晶晶,陶亮,张亚丽,等. 不同品种酥油理化特性及脂肪酸的研究[J]. 中国乳品工业,2005,43(4):13-15.
- [10] 彭恭,杜雅兰,徐式孟,等. 硬脂酰辅酶 A 去饱和酶与脂代谢调控[J]. 生命科学,2011,23(11):1101-1105.
- [11] Edwards P A, Abor D, Kast H R, Venkateswaran A. Regulation of gene expression by SREBP and SCAP[J]. Biochimica et Biophysica Acta,2000,1529(1/3):103-113.
- [12] 张立敏,张猛,周正奎,等. 基于高密度 SNP 芯片技术对中国西门塔尔牛 SCD1 基因与肉质性状相关性分析[J]. 畜牧兽医学报,2012,43(6):878-886.
- [13] 王小龙,陈仁金,杨章平,等. 中国荷斯坦牛 SCD1 基因多态性与泌乳性状的关联分析[J]. 畜牧兽医学报,2011,42(7):1022-1026.
- [14] 金世杰,李香子,高青山,等. 延边黄牛 SREBP1 和 SCD1 基因表达的发育性变化及与肌间脂肪含量的关联分析[J]. 饲料工业,2015,36(3):37-42.
- [15] 崔景香. 猪肌肉脂肪沉积相关基因的 mRNA 表达及功能分析[D]. 济南:山东农业大学,2011.
- [16] 栾广春,王加启,卜登攀. 多不饱和脂肪酸对机体脂肪代谢基因表达调控研究进展[J]. 中国畜牧兽医,2007,14(2):1-4.
- [17] 邵明丽,许梓荣. 猪脂肪代谢及其调控研究进展[J]. 饲料博览,2002(10):12-15.
- [18] 岳颖,刘国华,郑爱娟,等. 生长动物脂肪代谢关键酶基因表达调控[J]. 动物营养学报,2012,24(2):232-238.
- [19] Gondret F, Frere P, Dugail I. ADD-1/SREBP-1 is a major determinant of tissue differential lipogenic capacity in mammalian and avian species [J]. J. Lipid. Res., 2001, 42(1):106-113.
- [20] Barton L, Kott T, Bure, et al. The polymorphisms of stearoyl CoA desaturase(SCD1) and sterol regulatory element binding protein 1(SREBP1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls [J]. Meat Science,2010,85(6):15-20.
- [21] 吴妍霖,肖惠玲,王涛,等. SREBP 信号转导途径在代谢性疾病研究中的应用[J]. 辽宁中医药大学学报,2014,16(3):72-74.

Differential Analysis of SREBP-1 Gene Expression in Different Tissues of Yak

YUAN Jin-ying, SUN Wan-cheng, LUO Yi-hao*, XIE Feng-lian

(College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: The liver, kidney and colon of Qiong county, Datong county and Yuzhong county of Qinghai province were collected in different seasons. Total RNA was extracted, cDNA was generated by reverse transcriptase polymerase, and yak sterol regulation was detected by Real-time PCR. Expression level of the element binding protein 1 (SREBP-1) gene mRNA. The results showed that the relative expression levels of SREBP-1 gene in different tissues of yak were from liver to kidney and colon. The SREBP-1 gene has the highest relative copy number of SREBP-1 mRNA in liver samples except for the yak in the spring of 2016. The relative expression of SREBP-1 gene in the spring of 2015 and spring of 2016 was extremely significant. The relative expression of SREBP-1 gene in the colon and liver was significantly ($P < 0.01$), and the relative expression in the kidney and liver was significantly different ($P < 0.05$).

Key words: yak; sterol regulatory element binding protein; real-time quantitative PCR