

基因组学技术在动物遗传育种中的应用

李 宁

(中国农业大学 农业生物技术国家重点实验室, 北京 100094)

摘要: 文章叙述了分子育种的前景及重要意义, 并介绍了基因组学技术在动物育种实践中的应用现状.

关键词: 基因组学; 动物遗传育种; 分子育种技术

中图分类号: S813

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X (2005) S0-0012-08

Application of genomic technologies in animal genetics and breeding

LIN Ning

(State Key Laboratory for Agrobiotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: The perspective and importance of molecular breeding is discussed and the current status of the application of genomic technologies in animal breeding reviewed in this paper.

Key words: genomics; animal genetics and breeding; molecular tools

生物学是 20 世纪自然科学中发展最快、影响最大的学科之一. 随着蛋白质空间结构的 X 射线解析和 DNA 双螺旋的发现, 开始了以分子生物学为核心的现代生物学时代, 对遗传信息载体核酸和生命功能执行者蛋白质的研究成了生命科学的主要内容. 基因组学是生命科学研究的基础, 动物基因组研究的主要目标是定位、发现影响动物重要经济性状的主效基因, 在此基础上发展分子育种技术进行畜禽品种的改良. 基因组学及其相关领域的研究为解释生命现象提供最根本的信息.

随着基因组学和人类基因组计划研究的深入, 尤其是 2000 年人类基因组工作框架图的完成, 人类基因组学研究发展到了一个新的阶段, 动物基因组计划也发展到了一个关键时期^[1]. 越来越多的在人类基因组计划中起到重大作用的技术、方法、思路为开展动物基因组计划提供了重要的借鉴. 遗传图谱、物理图谱、基因图谱、序列图谱的构建同样也是动物基因组研究的重要内容. 与人类基因组研究不同, 动物基因组重点在于研究那些与经济性状有关的染色体区域, 基本目标是利用 DNA 重组技术精细定位畜禽中控制重要经济性状位点在遗传图谱和物理图谱中的位置, 并利用这些信息来改良畜禽品种. 对重要经济性状 (肉、蛋、奶等性状) 进行基因定位是动物基

因组研究的主要内容^[2]. 21 世纪是生物学发展的黄金时期, 动物遗传育种面临着新的挑战和机遇, 传统技术与现代技术交叉融会、基础研究与应用研究有机结合, 伴随着基因组研究技术的发展、完善和应用, 分子育种技术将给动物遗传育种研究带来革命性的变化.

1 分子育种技术是突破“育种平台”的重要方法

美国、欧洲等发达国家从 20 世纪 30 年代开始, 系统、科学地应用遗传学原理改良畜禽品种, 经过半个世纪的努力, 畜禽品种的生产效率获得了巨大的提高, 到 20 世纪 80 年代, 蛋鸡年产蛋量由 100 枚提高到 240 枚、猪的日增质量 (即: 日增重) 由 300 g 提高到 800 g 奶牛的年产奶量由 2 500 kg 提高到 7 000 kg. 随着生产效率的不断提高, 遗传改良的速度却逐步下降, 到 20 世纪 80 年代逐步进入了“育种平台阶段”. 因此, 动物遗传育种学家几乎一致认为要进一步提高动物品种的生产效率, 必须寻求新理论和新技术的突破, 特别是依靠动物全基因组的遗传信息和高通量的分子育种技术. 根据美英等西方发达国家政府和世界粮农组织 (FAO) 的预测, 21 世纪全球动物农业 90% 的品种都将通过分子育种提供, 而品

种对整个动物生产的贡献率亦将达到 50%以上, 显然品种是动物农业发展的首要关键, 所以必须通过选择, 培育出优良品种, 以突破育种“平台阶段”。

在传统的育种工作中, 首先得进行品种或品系间的杂交, 然后从分离后代中通过表型观察选择理想的重组基因型个体。这是一个耗时费力的过程, 其中难度最大、最关键的环节是选择。一方面, 有些性状难以测量, 如肉质、口感等表型观测十分困难; 另一方面, 大多数重要的经济性状都是数量性状, 易受环境影响, 导致选择的准确性不高, 所以如何进行有效选择成为育种工作的关键。伴随着分子生物学的发展, 特别是在人类基因组计划取得巨大的进展之后, 人们意识到利用基因组的信息和方法进行分子育种将导致畜牧业新的革命性进展, 并带来难以估算的高额利润。动物分子育种是在基因组学取得的海量数据基础上, 以分子数量遗传学为理论基础, 以分子水平的 DNA操作技术和数量遗传学的统计分析方法为主要手段, 以 DNA分子标记和 QTL的定位、克隆、分析为主要内容^[3 4]。动物功能性基因组学研究是 21 世纪动物遗传育种改良的重要内容, 高效、优质将同时成为育种目标的必然选择, 利用分子育种技术可以进行有效、快速的选择, 从而改良畜禽品种、突破“育种平台阶段”, 提高畜禽品种的生产效率。

2 动物基因组学研究是分子育种的基础

在人类基因组计划取得巨大成就的鼓舞下, 美国、欧洲等发达国家纷纷制定出动物基因组计划, 投入大量人力、物力开展相关研究。美国国家动物基因组研究计划 (NAGAP) 于 1991 年启动, 目前已资助经费 7.8 亿美元, 主要是针对猪、马、牛、羊、鸡等的功能基因和分子育种技术进行开发研究。欧盟于 1990 年启动动物基因定位计划 (PGMaP, BoMaP, ChickMaP), 1995 年后还增加了 PigBioDix, QuilbGene, ENDGENE 等计划, 资助的总经费超过了 8 亿欧元。2003 年动物基因组及相关生物技术成为欧盟第 6 个框架计划的 7 个优先研究领域之一, 而整个框架计划预计经费 22 亿欧元。日本的国家动物基因组分析计划 (NAGRP) 也于 1992 年启动, 10 年来的资助经费达到 5.6 亿美元。在欧洲, 一些国家在欧盟框架计划之外, 为了针对本国的畜牧业发展特点, 还纷纷启动了自己独立的动物基因组计划, 如法国于 2002 年 9 月展开的饲养动物基因组分析计划 (Agenae), 其目的是识别绝大部分控制动物机体功能的基因, 并了

解这些基因的特性。我国国家自然科学基金委在 1993 年开始资助有关家养动物重要生产性状的分子遗传学基础研究, 2000 年科技部在国家重大科学基础研究计划中部分资助了有关家养动物基因组的研究内容, 2002 年中国科学院创新工程计划开始部分支持猪、鸡、蚕基因组的测序工作。与发达国家相比, 我国的资助力度和范围还相对有限, 但随着研究的开展, 相信我国也将在动物基因组研究方面占有一席之地。

随着国际动物基因组计划的深入开展, 一批家养动物的基因组序列已经或即将测定完成。美国马里兰州基因组学研究所的科学家在 2003 年 9 月 26 日正式出版的美国《Science》杂志上发表了狗的全基因组基因组框架图^[5]。中国科学院北京基因组研究所、中国农业大学、美国华盛顿大学等的科学家共同努力, 于 2004 年 12 月 9 日在正式出版的《Nature》杂志发表了鸡的全基因组序列框架图^[6]和 SNP 遗传变异图^[7]。2004 年 12 月 10 日, 我国西南农业大学和中国科学院北京基因组研究所独立完成的家蚕基因组框架图在《Science》杂志正式刊登^[8]。2005 年是家养动物基因组计划成果更为灿烂的一年, 牛、猪、羊、猫等动物的基因组框架图有望取得突破性进展。

基因组测序的完成提供了大量的生物学信息资源, 伴随着海量数据的产出, 系统生物学观念逐步建立, 将会从根本上改变了传统生物学研究的思维方式。目前功能基因组研究已成为全球研究的领域热点, 比较基因组学、表达序列标签、基因表达系列分析、DNA 芯片技术、蛋白质组学、反求遗传学技术等都广泛地应用在基因组学的研究中; 此外生物信息学在功能基因组学的研究中也发挥着重要的作用^[9]。这些技术在不同程度上应用在畜禽基因组的研究中, 对于控制畜禽经济性状位点的研究起到了推动作用, 最终实现动物分子育种。

3 影响动物经济性状基因座的研究进展及应用

动物重要的经济性状大多数是数量性状, 这些性状的差异是由几个甚至由许多具有较小遗传效应的基因综合影响的结果, 这些基因的综合效应使得相关性状呈连续分布, 这些控制数量性状的基因称为数量性状基因座位 (QTL, Quantitative Trait Loci)。研究数量性状的关键是寻找、定位 QTL, 并在此基础上确定主效基因、找到 QTN (Quantitative Trait Nucleotide)。现代分子生物学、数量遗传学与经典孟德尔遗传学的有机结合为研究定位多基因、单基因性

状开辟了新的途径. 一方面可以通过基因组扫描与主效基因定位分析推断影响性状的主效基因与遗传标记的相对位置, 为实现标记辅助选择和位置克隆打下基础; 另一方面可以利用对功能候选基因的研究直接分析基因与性状的关系, 阐明性状变异的分子调控机理. 这是目前动物重要经济性状分子遗传基础研究所采用的两个最主要的技术手段.

3.1 影响猪经济性状基因座的研究进展

猪的基因组的大小、复杂程度以及染色体的结构与人的相似. 近年来在猪的基因组研究方面取得了一系列进展, 这些进展为猪的遗传育种、品种改良提供了基础. 目前猪的遗传图谱含有将近 5 000 个标记位点 (其中包括几百个基因座位), 猪的物理图谱涉及了 4 000 多个基因和标记位点, 这些标记为标记辅助选择提供了可能. 利用标记辅助选择对于改良遗传力低的性状如产仔数、肉质性状和屠体性状等, 其效率是传统育种方法的几倍、甚至几十倍^[10].

近些年在猪的研究中另一方面比较重要的进展就是关于 QTL 的研究. 猪的产仔数、日增质量、背膘厚、屠宰率等大多数重要经济性状均为数量性状. 最早建立可应用遗传标记进行 QTL 定位的资源群是 Andersson 等^[11] 用欧洲野公猪和长白猪杂交所得到的家系, 经较大规模的 QTL 检测发现在猪的 4 号染色体上存在影响背膘厚、小肠长度和生长速度的 QTL. 此外, 美国肉类动物研究中心、美国衣阿华大学、挪威、日本、韩国、西班牙等多个国家都各自建立了资源群体, 我国华南农业大学、华中农业大学、江西农业大学等也建立了资源群开展了猪的 QTL 定位方面的研究. 大量的研究表明, 在猪的多条染色体上存在着影响生长和胴体等性状的 QTL. 但 4 号染色体一直是猪的生长和胴体性状 QTL 定位的热点区域, Walling 等^[12] 对于该染色体进行了总结性的研究. 在 QTL 定位的基础上选择了一些候选基因进行了深入的研究. MHC 首先被作为猪生长和胴体性状的一个候选基因进行研究, 结果发现 MHC 单倍型与日增质量、背膘厚、眼肌面积、瘦肉率等性状之间存在相关. 此后, 又提出许多其他候选基因如 IGF1、HIF-1A、FABP、GH、MIRN、FSH 等, 这些基因主要涉及了猪的生长速度、背膘厚度、脂肪率、肉质、繁殖等性状.

3.1.1 影响猪生长性状的候选基因 猪的生长性能的优劣直接影响了养猪的生产效率和经济效益, 众多基因参与了猪的生长代谢. 生长激素相关基因及其受体、生肌因子基因与猪的生长速度相关, 瘦蛋白基因及其受体可能与脂肪积蓄相关, 此外脂肪酸

结合蛋白基因、缩胆囊基因可能也与生长性状相关. 在诸多可以作为候选基因的基因之中, IGF2 值得关注. 1994 年, Andersson^[11] 发现在猪的 2 号染色体上存在影响背膘厚的 QTL. 1996、1998 年的研究进一步证实了这个结果^[13-14]. 在研究中发现这个 QTL 存在印记效应, 是一个影响背膘厚的 QTL 并呈父系遗传^[15]. 从染色体的位置、基因作用的效果以及父系遗传等方面考虑, 1999 年 Jeon^[16]、Nezer^[17] 等将 IGF2 作为重要的候选基因进行研究. 2003 年 Nezer 等^[18] 对 IGF2 做了更深入的研究, 对包括 IGF2 基因的 250-kb 基因组区间上进行了单体型方面的研究. 同样在 2003 年发现在 IGF2 基因中存在一个碱基的突变导致了猪的肌肉生长、脂肪沉积、心脏大小等多方面的不同. 该突变点 (G→A) 位于的 IGF2 基因第三外显子 CPG 岛处, 由于该突变导致了一个转录结合因子的锚定位点发生了改变, 通过关联分析, 推断该位点可能是一个 QTN^[19], 影响猪的生长性状.

3.1.2 影响猪肉质性状的候选基因 猪的肉质是养猪生产中的一个重要经济性状, 目前已经发现了对肉质性状有较大影响的主效基因: 氟烷基基因和 RN 基因. 猪应激综合征 (Porcine Stress Syndrome, PSS), 是猪受到应激刺激而出现的综合征候群, 主要临床表现是肌肉紧张, 由于肌糖元过量迅速酵解引发内分泌和代谢失调, 出现一系列酸中毒征状, 呼吸急促、心跳加快、体温升高, 严重者可致突然死亡. 这种猪宰后会产生 PSE 肉 (Pale Soft Exudative), 即肉色苍白、质地松软、切面渗出的劣质肉, 给养猪生产、销售和加工造成巨大的经济损失. 在随后的研究中发现导致应激综合征的猪对氟烷基敏感, 所以又将猪应激综合征基因称为氟烷基基因 (Halothane Hal) 或者称氟烷基敏感基因. 研究表明这是一个具不完全显性的常染色体上的隐性基因, 该基因隐性纯合子时易产生猪应激综合征, 导致屠宰后出现 PSE 肉. 研究表明氟烷基基因即是位于猪染色体 6q1.1-1.2 的 RYR (Ryanodine Receptor) 基因, 其 cDNA 上的第 1843 碱基由 C 突变为 T 导致编码的氨基酸由 Arg 变成 Cys, 使得 RYR 蛋白不能正常裂解, 从而导致 Ca²⁺ 释放通道功能异常, 导致 PSS 发生^[20]. 根据这一原理, 可以利用 PCR-RFLP 的方法进行基因检测, 并已经应用于育种实践.

RN 基因又称酸肉基因, 是影响猪肉质加工性状 RTN (Napole technological yield) 的主效位点, 主要存在于纯种汉普夏和有汉普夏血统的品系中. 1995 年, Milan 等^[21] 将 RN 基因定位在 15 号染色体上.

1996年他们将 RN基因定位在 15 χ 4—2.5位置, 其侧翼的标记是 SW053 和 SW36^[22]. 1998年他们用放射性杂交方法将该基因的位置精确定位在 15 χ 5位置^[23]. 2000年 Milan等^[24]在酸肉发生机理的研究中发现, 腺苷一磷酸激活蛋白激酶 (AMPK) 被激活后能阻止糖原合成和刺激糖原降解, 在肌肉提取液中正常猪 (my) 的 AMPK活性比非正常猪 (RN) 的高大约 3 倍. 编码 AMPK γ 亚基的 PRKAG3 基因在肌肉中特异性地表达, 在调节骨骼肌能量代谢中起关键作用. 在汉普夏猪中 PRKAG3 基因中存在一点突变, 使得第 200 位的 A $\rightarrow$ G 中止了糖原的积蓄, 导致了酸肉的产生, 利用这一突变则可以准确地检验 RN基因^[24], 在后来的研究中在 PRKAG3 基因中又发现了其他的突变位点^[25, 26]. 这些突变位点都有可能应用于猪的遗传育种之中, 进行猪的品种改良.

3.1.3 影响猪繁殖性状的候选基因 猪的繁殖力是影响猪生产经济效益的关键因素之一, 由于繁殖性能的遗传力较低, 采用常规选择方法对猪的遗传力的改良进展缓慢. 从 20 世纪 90 年代以来, 大量的工作投入在分子水平对繁殖性状的遗传部分研究中. 目前已经证实雌激素受体基因 (ESR) 和卵泡刺激素 β 亚基基因 (FSH β) 是影响产仔数的主基因. 研究发现在猪的 FSH β 中存在 PCR 长度多态性, 这一多态是由一段 292 bp 插入引起的^[27], 根据插入突变设计引物利用 PCR 检测猪的 FSH β 座位的多态性, FSH β 基因型为 BB 的母猪与基因型为 AA 的母猪相比, 总产仔数平均每胎可多产出 1.5~2.0 头, 而活产仔数平均每胎则多产出 1.0~1.5 头. 根据研究结果, 设计了高产仔数基因座位的 PCR 基因诊断盒, 以适于在育种现场使用. 目前优良基因型的诊断技术已申请了国际专利, 这是美国专利局授予我国的第一个关于畜禽 DNA 标记的专利, 专利名称是 “DNA Markers for Pig Litter Size”, 专利号为 US6 291 174 B1, 其应用潜力可达数十亿人民币.

3.2 影响牛经济性状基因座的研究进展

对于牛的经济性状, 人们一直较为关注在肉牛的肉质产量和奶牛的产奶量及奶组成等方面的性状.

3.2.1 影响牛双肌性状的候选基因 早在 1807 年就对牛的双肌性状进行了记载和描述. 1995 年 Charlier 等^[28]用 7 个微卫星标记对双肌牛和非双肌牛回交群体进行研究, 将 mh (muscular hypertrophy) 定位于牛的 2 号染色体上, 并认为双肌性状为常染色体单基因隐性遗传. 1997 年研究发现正常情况下

GDF8 编码一种蛋白——肌肉生长抑制素, GDF8 突变后该蛋白也随之丧失生理功能^[29]. GDF8 即为 myostatin 基因, 通过比较基因组学研究发现在比利时蓝白花牛 (Belgian Blue) 的 myostatin 基因在第 3 个外显子处缺失了 11 个核苷酸, 而皮埃蒙特牛 (Piedmontese) 则是在第 3 个外显子处有一错义突变, 致使 myostatin 基因丧失抑制肌肉生长的活性, 而引起牛表现双肌性状^[30]. 虽然双肌性状可以应用于生产之中, 但仍然存在一些较难以解决的问题, 如牛出生困难等^[31], 这些问题的克服还有待于进一步的研究.

3.2.2 影响牛产奶量和奶组成的候选基因 对于奶牛的产奶量和奶组成的研究, 人们通过基因组扫描在牛的 6 号染色体上发现 6 个影响奶牛产奶量的 QTL. 2005 年, Schnabel^[32]利用 38 个微卫星标记对有系谱记录的 3 147 个荷斯坦牛进行扫描, 对早先定位 QTL 的 6 号染色体精确制图. 他们对含有 Osteopontin 的 12.3 kb 的区域进行测序, 鉴定出 9 个突变位点, 其中只有 OPN907 的基因型与 8 头公牛分离分析建立的 QTL 基因型相一致. 研究认为含有 OPN907 的元件, 位于启动子的上游, 并且位于特异性组织的 osteopontin 调控元件的区域中. 这个元件在 DNA 库中无法找到, 也许是一个异常的调控元件, 有待进一步研究^[32]. Cohen-Zinler^[33]同样在牛的 6 号染色体上发现 ABCG2 基因存在错义突变, 这个突变影响了荷尔坦斯牛的奶量和奶的组成. PPARGQ A (peroxysome proliferator activated receptor gamma coactivator α) 基因, 由于它在染色体上的位置, 以及它对能量、脂肪和葡萄糖代谢的影响, 成为 6 号染色体上 QTL 中影响牛奶脂肪的位置候选基因. 通过观察大量的奶牛群体, 发现 PPARGQ A 基因上的第 9 外显子的一个 SNP 与牛奶脂肪有极大关联性, 表明 PPARGQ A 基因可能涉及到 6 号染色体中牛奶脂肪合成的 QTL 的遗传变异^[34]. 在早期的研究中还发现多个影响牛的产奶量和奶组成的 QTL, 尤其是在牛的 14 号染色体上. 通过对一个含有 1 158 个后代的杂交群体分析, 将一个影响奶组成的 QTL 定位在 14 号染色体着丝粒末端区域. 根据连锁不平衡分析和物理图谱的研究, 表明位于该区域的 DGAT1 基因与此强烈相关, 位于 BLUGF3 和 BLUGF9 之间. DGAT1 基因中有 4 个多态存在, 其中有 3 个与表型共分离, 当 232 位的 LY 取代了 AL 将影响奶产量和奶组成^[35].

随着对畜禽基因组学的研究越来越广泛和深入, 对牛的 QTL 寻找和定位工作也从传统的产奶性

状、肉质产量以及蛋白含量等经济性状延伸到了如牛的乳腺炎、产仔数和健康状况等较新的 QTL 研究领域^[36]。众多 QTL 图谱显示多个染色体区域存在着高密度数量性状位点,同时某些单个染色体位置上也存在重要的 QTL。许多通过整体或者局部基因组扫描得到的奶牛 QTL 位点信息都已公布 (<http://www.vetsci.usyd.edu.au/reProGen/QTLMap>)。

3.3 影响羊经济性状基因座的研究进展

对于羊的经济性状的研究虽然不像猪、牛那样广泛,但也取得了较大的进展。

1983 年人们发现了羊的双肌臀性状 (callipygous 表型),研究表明该性状由常染色体上的基因突变引起,称为 Callipyge 基因。该基因以“父本极性超显性”方式遗传,即只有从父本获得该基因的杂合子 CN 才能表现出双肌臀性状,其最显著的遗传效应是提高双肌臀羊的瘦肉率,此外对屠宰率、饲料利用率、胴体性状等有影响。通过 DNA 标记将这个基因定位在 18 号染色体端粒区微卫星标记 CSSM178 和 TGLA22 之间^[37-38]。2002 年,Freking 等^[39]用谱系的方法,发现在一个碱基 A 到 G 的突变对 callipygous 的表型有关。随后对 DIK1、GTL2、PEG1 和 MEQ1 印记区域进行研究同样发现在 DIK1 和 GTL2 之间的 A 到 G 的突变决定了 callipygous 表型^[40]。

对于羊的繁殖能力主要研究的是 FecB 基因,其通过增加排卵数使产仔数提高,目前已将 FecB 基因进一步定位在羊 6 号染色体 6Q23-Q31^[41]。Mufant 等^[42]发现在 BMPR1B 基因有 2 个突变点,一个是编码区 746 碱基 (A→G),另一个是 1113 碱基 (C→A),关联分析表明 BMPR1B 的突变与 FecB 基因的行为是完全一致的,从而证明 BMPR1B 基因是控制 Booroola 羊高繁殖性能的主效基因。

此外其他关于 QTL 的研究还表明在羊的 1 号染色体有一个潜在的 QTL 位于 BM246 和 MCM30 之间,影响着肌肉的厚度;在 2 号染色体上可能存在于一个影响脂肪的 QTL,其位于 ILST30 附近,距离肌细胞生长抑制素 26M 在 18 号染色体的 callipyge 和 Carve 基因的附近存在一个重要的 QTL,影响着肌肉的厚度^[43]。对于羊奶的研究,Calvo 等^[44]将脂肪酸结合蛋白 (FABP) 候选基因进行研究,对包含 13 个家系的进行了 SNP 检测分析,结果表明 FABP 基因和奶脂肪含量上存在相关,进一步的研究还有待进行。

3.4 影响鸡经济性状基因座的研究进展

影响鸡的经济性状主要分为 2 个方面,一面是

生长性状、繁殖性状,另一方面是疾病性状。在鸡的生产中最重要的目标生长性状就是快速增质量 (m) 和高产蛋量。近年来,鸡肉和鸡蛋品质性状的定位取得了长足的发展。鸡的 QTL 随机分布在基因组上,对于相似的性状,不同的研究得到的结果相差较大。利用不同的杂交组合和资源群体定位了一系列 QTL,这些 QTL 主要涉及了生长性状 (如不同周龄的体质量^[45-46])、屠体性状^[47]、繁殖性状 (如初产周龄、产蛋数^[48]) 以及一些疾病性状 (如影响 Mark 氏病耐受性的 QTL^[49])。

在鸡的研究中,鸡性连锁矮小基因也是一个值得关注的结果。该基因在 20 世纪 50 年代就已被发现并对其进行了系统的孟德尔遗传方式和特性研究,但对其分子遗传基础近半个世纪来均一无所知。1993 年开始,我国科学家利用限制性酶切片长度多态性的技术,依据候选基因定位思想,对正常鸡和性连锁矮小鸡的生长激素轴的全部基因座位进行了深入研究,发现性连锁矮小鸡的生长激素受体基因发生了突变。通过染色体原位杂交证实了生长激素受体基因位于鸡性染色体 (GGAZ) 长臂上。通过测序精细定位,证明了性连锁矮小鸡生长激素受体基因编码受体蛋白胞内区的第 10 个外显子发生了 1 775 个核苷酸的缺失突变,从而给鸡性连锁矮小基因的分子遗传基础研究有了明确的结论。国际动物基因定位研究先驱者 Michel Georges 和 Leif Andersson^[50]在总结动物基因组作图十几年来研究成就“家畜基因组学的新纪元 (Livestock Genomics Comes of Age)”一文中指出,在国际上现已精细定位的 5 个畜禽重要单基因中,鸡性连锁矮小基因是其中之一。中国农业大学蛋鸡攻关课题组,历经 10 年的选育研究,成功培育出“农大三号”节粮小型蛋鸡。此项成果的核心技术是把矮小基因 dw 引入高产蛋鸡,从而在不影响产蛋量的基础上提高蛋鸡的饲料利用率,在节约粮食的基础上降低鸡蛋生产的成本,提高蛋鸡饲养的经济效益。经国家家禽测定中心测定,“农大三号”节粮小型蛋鸡 72 周龄饲养日,产蛋数达到 289.9 个,料蛋比达到 2.05:1,总蛋质量 16.3 kg。这种节粮型蛋鸡形体相对普通鸡小 20%~30%,因而可节省饲料 20% 左右,使饲料转化率提高了 15%~20%。

4 利用基因学研究方法进行抗病育种研究

畜禽疾病是困扰我国当前畜牧业的一大难题,免疫接种、药物治疗、卫生隔离等防治手段难以完全

行之有效, 抗菌素的滥用导致畜禽产品携带大量残留药物, 成为药物食品, 对人类的健康产生不良影响. 因此寻找一条安全可靠且经济可行的疾病控制途径已是当务之急.

从农业动物本身的遗传素质出发, 培育出具有较强免疫能力和抗病力的家畜禽是动物育种学家们孜孜以求的目标. 这样培育的新种群不仅能够稳定遗传, 永久利用其优越的免疫能力、减少疫苗和抗生素的使用, 而且由于其减少甚至阻断了病原的繁殖和传播, 对于环境的可持续发展也具有十分重要的意义. 在国际上, PIC公司已经于 2003 年在西班牙培育成功了能够抵御大肠杆菌 F18 所产生的仔猪腹泻的新品系. 抗鸡马立克氏病抗性基因、奶牛乳房炎抗性基因的成功应用也为农业动物的抗病育种提供了新的范例, 也是当前国际畜禽育种的一大进步. 分离疾病抗性及相关主效基因、培育抗性畜禽品种已经成为 21 世纪农业动物遗传育种的主攻方向之一.

5 结束语

动物基因组学的研究, 特别是重要经济性状位点的研究, 将会应用于农业动物遗传育种领域, 并结合转基因、克隆等分子生物学技术手段就能够大幅度地提高养殖业的生产效率. 西方发达国家政府、大型育种公司和著名科学家曾经预测在 21 世纪初利用动物基因组研究成果改良农业动物品种的潜力. 发达国家目前牛年产量为 9 000 kg 预计到 2015 年可达到 18 000 kg 目前猪日增质量为 900 g/d 预计到 2015 年可达到 1 600 g/d 目前猪瘦肉率为 60%, 预计到 2015 年可达到 70%. 由于分子生物学方法和技术的日趋成熟, 分子标记检测手段逐渐完善, 已经到了利用分子生物学方法在数量性状研究中有所突破的时代了.

分子育种技术已经开始运用于畜禽的育种实践中, 特别是标记辅助选择应用更为广泛. 目前, 美国、英国、加拿大等发达国家 90% 的猪种经过至少 9 种基因诊断盒的改良, 而鸡、牛种上分别至少有 6 种基因诊断盒在进行商业化应用. 依赖于基因或 DNA 标记技术的分子育种公司也已经涌现, 如澳大利亚的 Genetic Solution Ltd 美国的 GenMark Inc 英国的 Rosgen Ltd CelMark Co 荷兰的 Genab Ltd 新西兰的 Genomnz Inc 等; 而一些曾经依赖于常规育种技术的大型育种公司也纷纷建立了自己的分子育种部, 如美国的 Highline Dekalb 英国的 PIC 等等, 规模巨大, 利用动物全基因组的标记信息结合生物信息学

的系统, 动物分子育种技术平台已经开始建立, 并正在育种实践中进行完善. 截止到 2001 年已经能够应用于动物选种中的功能基因就有 80 种之多, 其中马有 10 种, 牛有 18 种, 猪有 16 种, 羊有 8 种, 鸡有 17 种, 而具有遗传效应的相关 DNA 标记多达 300 多种, 这些分子育种技术为世界动物农业带来前所未有的生产效益.

致谢: 本文材料由中国农业大学高宇博士负责收集整理, 并撰写初稿, 刘秋月、韩瑾润、冯春刚、宋迟、吕小青等参与部分工作, 在此一并表示感谢!

参考文献:

- [1] COLLINS FS GREEN ED GUTIMACHER AE et al A vision for the future of genomics research [J]. Nature 2003 422 835—847
- [2] ANDERSSON L GEORGES M Domestic animal genomics deciphering the genetics of complex traits [J]. Nat Rev Genet 2004 5(3): 202—12
- [3] WOYCHIK RP KLEBIG ML JUSTICE MJ et al Functional genomics in the Post Genome era [J]. Mutation Research 1998 400 3—14
- [4] BORK P DANDEKAR T DIAZ-IAZCOZ Y et al Predicting function from genes to genomes and back [J]. Journal of Molecular Biology 1998 283(4): 707—725
- [5] KIRKNESS EF BAFNA V HALPERN AL et al The dog genome: survey sequencing and comparative analysis [J]. Science 2003 301(5641): 1898—1903
- [6] HILLER LW MILLER W BIRNEY E et al Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution [J]. Nature 2004 432(7018): 695—716
- [7] WONG GK LU B WANG J A genetic variation map for chicken with 2.8 million single nucleotide polymorphisms [J]. Nature 2004 432(7018): 717—722
- [8] XIA Q ZHOU Z LU C et al A draft sequence for the genome of the domesticated silkworm (Bombyx mori) [J]. Science 2004 306(5703): 1937—1940
- [9] HIETER P BOGUSKIM Functional genomics it's all how you read it [J]. Science 1997 278 601—602
- [10] ROHSCHILDM F Porcine genomics delivers new tools and results this little piggy did more than just go to market [J]. Genet Res 2004 83(1): 1—6
- [11] ANDERSSON L HALEY CS ELLEGREN H et al Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fitness in Pigs [J]. Science 1994 263 1771—1774
- [12] WALLING GA VISSCHE PM ANDERSSON L et al Combined analyses of data from quantitative trait loci

- mapping studies: chromosome 4 effects on porcine growth and fitness [J]. *Genetics* 2000 155: 1 369—1 378
- [13] ANDERSSON-EKLUND L, MARKLUND L, LUNDS-TROM K, et al. Mapping QTLs for morphological and meat quality traits in a wild boar intercross [J]. *Animal Genetics* 1996 27(2): 111
- [14] ANDERSSON-EKLUND L, MARKLUND L, LUNDS-TROM K, et al. Mapping quantitative trait loci for carcass and meat quality traits in a wild boar $\times$ Large White intercross [J]. *Journal of Animal Science* 1998 76: 694—700
- [15] KONIG D J, JASSL L, RATTINK A P, et al. Detection of quantitative trait loci for backfat thickness and intramuscular fat content in Pigs (*Sus scrofa*) [J]. *Genetics* 1999 152(4): 1 679—1 690
- [16] JEON J T, CARLBORG O, TORNSTEN A, et al. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in Pigs maps to the IGF2 locus [J]. *Nature Genetics* 1999 21: 157—158
- [17] NEZER C, MOREAU L, BROUWERS B, et al. An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in Pigs [J]. *Nature Genetics* 1999 21: 155—156
- [18] NEZER C, COLLETTE C, MOREAU L, et al. Haplotype sharing refines the location of an imprinted quantitative trait locus with major effect on muscle mass to a 250-kb chromosome segment containing the porcine IGF2 gene [J]. *Genetics* 2003 165: 277—285
- [19] ANNE-SOPHIE V L, MINH N, MARTIN B, et al. A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the Pig [J]. *Nature* 2003 425: 832—836
- [20] FUJII J, OTSU K, ZORZATO F, et al. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia [J]. *Science* 1994 253(5 018): 448—451
- [21] MILAN D, WOLOSZYN N, YERLEM, et al. Accurate mapping of the “acid meat” RN gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15 [J]. *Mammalian Genome* 1996 7: 47—51
- [22] MILAN D, WOLOSZYN N, GIEAUM, et al. Toward the identification of RN gene involved in meat quality in Pigs [J]. *Animal Genetics* 1996 27: 114
- [23] MILAN D, BIDANEL J P, le ROY P, et al. Current status of QTL detection in Large White $\times$ Meishan crosses in France [A]. *Proceeding of the 6 th world congress on genetics applied to livestock production* [C]. Adelaide Australia, 1998 26: 414
- [24] MILAN D, JEON J T, LOOFT C, et al. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle [J]. *Science* 2000 88: 1 248—1 251
- [25] LINDAHL G. A second mutant allele (V199 I) at the PRKAG3 (RN) locus. I. Effect on technological meat quality of pork loin [J]. *Meat Science* 2003 66: 609—619
- [26] LINDAHL G. A second mutant allele (V199 I) at the PRKAG3 (RN) locus. II. Effect on colour characteristics of pork loin [J]. *Meat Science* 2003 66: 621—627 (2003).
- [27] 赵要风, 李 宁. 猪 F5B 亚基基因结构区逆座子插入突变及其与猪产仔数关系的研究 [J]. *中国科学 (C 辑)* 1999 29(1): 81—86
- [28] CHARLIER C, COPPIETERS W, FARNIR F, et al. The mh gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2 [J]. *Mammalian Genome* 1995 6: 788—792
- [29] MCPHERRON A C, LAWLER A M, LEE S J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member [J]. *Nature* 1997 387: 83—90
- [30] MCPHERRON A C, LEE S J. Double-muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 94: 12 457—12 461
- [31] BELLINGER H S, LIBERLES D A, IASCHIS P A, et al. Myostatin and its implications on animal breeding: a review [J]. *Animal Genetics* 2005 36(1): 1—6
- [32] SCHNABEL R D. Fine-mapping ilk production quantitative trait loci on BTA6: analysis of the bovine osteonectin gene [J]. *Proc Natl Acad Science USA* 2005 102(19): 6 896—6 901
- [33] COHEN-ZINER M. Identification of a missense mutation in the bovine ABCG2 gene with a major effect on the QTL on chromosome 6 affecting milk yield and composition in Holstein cattle [J]. *Genome Research* 2005 15(7): 936—944
- [34] WEKARD R. The bovine PPARGC1A gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis [J]. *Physiol Genomics* 2005 21(1): 1—13
- [35] GRISART B, COPPIETERS W, FARNIR F, et al. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with a major effect on milk yield and composition [J]. *Genome Research* 2002 12: 222—231
- [36] KHATKAR M S, THOMSON P C, TAMMEN J, et al. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis [J]. *Genetics Selection Evolution* 2004 36: 163—190
- [37] COCKETT N E, JACKSON S P, SHAY T L, et al. Polarity overdominance at the ovine callipyge locus [J]. *Science* 1996 273: 236—238

[38] FREKNG B A, KEELE JW, NELSEN M K, et al. Evaluation of the ovine callipyge locus: II Genotypic effects on growth, slaughter and carcass traits [J]. *Animal Science*, 1998, 76: 2 549—2 559.

[39] FREKNG B A, MURPHY S K, WYLIE A A, et al. Identification of the single base change causing the callipyge muscle hypertrophy phenotype: the only known example of polar overdominance in mammals [J]. *Genome Research*, 2002, 12: 1 496—1 506.

[40] SMITH SEGERSK, CARRASCOSA L G, et al. Mosaicism of solid gold supports the causality of a noncoding A to G transition in the determinism of the callipyge phenotype [J]. *Genetics*, 2003, 163: 453—456.

[41] WILSON T, WUX Y, JUENGEL J L, et al. Halfbred Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein-1B receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells [J]. *Biology of Reproduction*, 2001, 64: 1 225—1 235.

[42] Mulsant P, Lecerff F, Fabre S, et al. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 5 104—5 109.

[43] WALLING G A. Mapping of quantitative trait loci for growth and carcass traits in commercial sheep populations [J]. *Animal Science*, 2004, 82(8): 2 234—2 245.

[44] CALVO J H. Association of the heart fatty acid-binding protein (FABP3) gene with milk traits in Manchega breed sheep [J]. *Animal Genetics*, 2004, 35(4): 347—349.

[45] SEWALEM A, MORRICE D M, LAW A S, et al. Mapping of Quantitative Trait Loci (QTL) for body weight at 3, 6 and 9 weeks of age in a broiler layer cross [J]. *Poultry Science*, 2002, 81: 1 775—1 781.

[46] TATSUDA K, FUJINAKA K. Genetic mapping of the QTL affecting body weight in chickens using a F-2 family [J]. *British Poultry Science*, 2001, 42: 333—337.

[47] TATSUDA K, FUJINAKA K. Genetic mapping of the QTL affecting abdominal fat deposition in chickens [J]. *Journal of Poultry Science*, 2001, 38: 266—274.

[48] TUISKULA-HAAVISTO M, HONKATUKIA M, VIKKI J, et al. Mapping of quantitative trait loci affecting quality and production traits in egg layers [J]. *Poultry Science*, 2002, 81: 919—927.

[49] VALLEJO R L, BACON L D, LIU H C, et al. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting susceptibility to Marek's disease virus induced tumors in F-2 intercross chickens [J]. *Genetics*, 1998, 148: 349—360.

[50] GEORGER S M, ANDERSSON L. Livestock genomics comes of age [J]. *Genome Research*, 1996, 6: 907—992.

【责任编辑 柴 焰】