

骆美蓉,江明锋,张 鹏,等. 山羊分子生物学研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(1):46-49.

# 山羊分子生物学研究进展

骆美蓉<sup>1,2</sup>, 江明锋<sup>1,2</sup>, 张 鹏<sup>1,2</sup>, 王 永<sup>1</sup>

(1. 青藏高原动物遗传资源保护与利用四川省重点实验室,四川成都 610041; 2. 西南民族大学生命科学与技术学院,四川成都 610041)

**摘要:**综述了近年来国内外关于山羊分子生物学方面的研究进展,介绍了山羊起源分化和遗传多样性的分子标记研究、山羊相关经济性状的主要功能基因以及山羊在基因组、转录组和蛋白质组方面的研究进展,讨论了山羊研究存在的问题和发展趋势。

**关键词:**山羊;分子标记;功能基因;基因组;转录组;蛋白质组

**中图分类号:** S827.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)01-0046-04

山羊是世界上最早驯养的家畜之一,其品种多样,适应性强,分布广泛,经济效益大。据联合国粮食和农业组织统计,目前世界上共有 1 000 多个山羊品种,近 8.3 亿只山羊。近年来,发展中国家养羊业发展迅速。我国已成为世界上山羊饲养量、出栏量、羊肉产量最多的国家。同时山羊产业成为我国大部分地区畜牧业的重要支柱。但是国内外关于山羊的研究尤其是功能基因的研究大多是通过牛和绵羊相关研究成果来进行的。山羊在分子生物学上的研究远落后于猪、牛、绵羊等家畜。随着山羊全基因组测序的完成和全基因组图谱的公布,山羊的科学研究随之进入到一个全新时代。

## 1 山羊分子标记及遗传多样性分析

分子标记是以 DNA 多态性为基础的遗传标记,是 DNA 水平上遗传变异的直接反映,目前已发展到第 3 代分子标记。在山羊产业中应用广泛的分子标记技术包括限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、随机

扩增多态性 DNA(random amplified polymorphic DNA, RAPD)、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)标记、简单重复序列(simple sequence repeat, SSR)等。

山羊分子标记研究主要应用于山羊的起源分化和遗传多样性分析。虽然科研人员早在 1962 年就开始研究家山羊的起源和遗传多样性,但至今家山羊的起源和遗传多样性仍具有不确定性<sup>[1]</sup>。近 10 年来,家山羊起源分化和遗传多样性的研究主要是通过线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)进行的。mtDNA 基因组序列一般无间隔、结构简单、突变率高、严格的母系遗传,而这是其成为首要研究对象的主要原因。科研人员通过对 mtDNA 的研究发现山羊有 7 个支系起源(A 至 G),其中 B 支系只存在于亚洲东南部。因此 Lin 等对东南亚 12 个国家共计 1 661 只山羊 mtDNA 进行 RFLP 分析,以期进一步探究亚洲山羊的起源<sup>[1]</sup>。结果表明,亚洲家山羊可分为 4 个支系:A 和 B 支系山羊占主导地位,C 和 D 支系山羊频率低且只存在于中国、巴基斯坦和印度。近期,A 支系山羊向东南亚地区渗透,但 B 支系山羊在东南亚仍具有优势,且有向东南方向增加的趋势。王杰等也根据前人的研究对我国 7 个山羊品种的 mtDNA D-loop 区进行了 RFLP 标记,发现我国山羊有 4 个支系起源(A 至 D)且具有很高的遗传多样性<sup>[2]</sup>。王志刚等对我国 39 个地方山羊品种进行 SSR 标记,其关于我国山羊遗传多样性的分析与王杰一致<sup>[3]</sup>。总的来说,我国山羊具有较高水平的遗传多样性,其中北方地区山羊遗传多样性最为丰富。遗传变异主要存在于品种内,品种间遗传分化处于中等水平,选育潜力大。在遗传资源保护方面,

出版社,2003:40.

[2] 金坚敏,张静兰,唐定台. 水稻幼穗和成熟种子诱导胚状体时的有关因子探讨[J]. 植物学通报,1992,9(2):53-54.

[3] 邹英宁,李国怀,吴强盛. 中国李组织培养过程中褐变的抑制研究[J]. 山地农业生物学报,2007,26(6):508-512.

[4] 张妙霞,孔祥生,郭秀璞,等. 柿树组织培养防止外植体褐变的研究[J]. 河南农业大学学报,1999,33(1):87-91.

[5] 王 苑,谢凝子. 植物组织培养中的褐变现象及抗褐变研究进展[J]. 黔西南民族师范高等专科学校学报,2007(3):109-113.

[6] 曹鸿斌,刘魁英,赵宗芸,等. 龙眼组培的褐变抑制研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(8):3132-3133.

收稿日期:2013-04-22

资助项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD13B06);教育部科学技术研究重点项目(编号:210265);四川省科技创新产业链示范工程重大项目(编号:2011NZ0003);西南民族大学研究生创新型科研项目(编号:CX2011SP44)。

作者简介:骆美蓉(1987—),女,河南信阳人,硕士研究生,主要从事羊遗传育种方面的研究。E-mail:xygzlmr@126.com。

通信作者:王永,博士,教授,博士生导师,研究方向为动物遗传育种。E-mail:wangyong010101@swun.cn。

活性炭对褐变的影响:培养基中加入一定量的活性炭能明显地抑制褐变,因为活性炭能吸附外植体产生的有害物质,从而减轻褐变。曹鸿斌等在对龙眼外植体褐变的研究中也证实加入活性炭能较好地抑制褐化<sup>[6]</sup>。但活性炭加入的量要适宜,因为活性炭的吸附作用是无选择性的,它在吸附有害物质的同时,也吸附了营养物质和激素,从而影响外植体生长。

除培养基外,影响外植体褐变的因素还有很多,如外植体的生理状态、温度、光照等,需要进一步研究探讨。

## 参考文献:

[1] 刘庆昌,吴国良. 植物细胞组织培养[M]. 北京:中国农业大学

应防止盲目杂交并选取具有代表性的山羊品种进行保护。

2 山羊主要功能基因研究

山羊在分子生物学方面研究最多的是山羊疾病及其抗病

基因,其次是山羊经济性状相关基因的研究。据此,将山羊功能基因划分为毛、肉、乳、繁殖、免疫 5 个性状进行阐述。表 1 列举了山羊这 5 个性状的主要相关基因。

表 1 山羊候选基因及其与性状间的关系

候选基因	性状	候选基因与性状的相关性	文献
生长激素基因	体重	AACD 基因型抑制体重增加	[4]
肌肉生长抑制素	肉产量	AB 基因型和 ABCD 基因型促进体重增加	[5]
促性腺激素释放激素	繁殖性状	CC 和 CT 基因型能增加产羔数	[7]
酪蛋白相关基因	产乳量及风味	丰富的 SNP 可增加产乳量,乳糖、脂肪、蛋白的含量	[8]
<i>POUIF1</i>	产乳量、质量及绒产量	丰富的 SNP 可提高产乳量,提高乳质量;其 TT 基因型增加绒产量	[9,11]
泌乳素基因	绒长度	其 X76049:g.576 位点为 C 时增加绒长	[10]
褪黑激素受体基因	绒产量	其基因型为 AA 时增加绒产量	[12]
主要组织相容性复合体	免疫性状	对动物抗病、抗逆性和免疫调节有重要作用	[13]

2.1 影响山羊产肉性状的功能基因

波尔山羊作为优秀的肉用山羊品种被引进我国,以期提高我国本地山羊的产肉性能。为找到增加山羊产肉量的主效基因以更好地进行山羊繁殖育种工作,Hua 等对波尔山羊的生长激素基因进行了研究<sup>[4]</sup>,Zhang 等对其肌肉生长抑制素基因进行了变异分析<sup>[5]</sup>,结果发现,生长激素基因的 AACD 基因型对体重的增加有抑制作用而其他基因型对体重、体长的影响不明显;肌肉生长抑制素基因的 AB 基因型和合并基因型 ABCD 能够显著促进山羊体重的增加。

2.2 影响山羊繁殖性状的功能基因

对山羊繁殖性状功能基因的研究主要集中在绵羊多胎的分子标记基因上,如骨形态发生蛋白及其受体基因和生长分化因子 9 等。而 Ahlawat 等研究发现印度本地山羊中并未发现这些基因存在与多胎性状相关的突变,这与我国科研人员在研究本地山羊多胎相关基因时情况相似<sup>[6]</sup>。据此可看出依靠绵羊繁殖性状的基因对山羊繁殖相关功能基因的研究具有一定的局限性。严泉梅等对促性腺激素释放激素(GnRH)基因遗传变异的研究突破这一局限,发现在人类中与性早熟相关的 GnRH 的 CC 基因型和 CT 基因型能使西农萨能奶山羊和布尔山羊的产羔数显著增加<sup>[7]</sup>。

2.3 影响泌乳性状的功能基因

近期科研人员在寻找人类代乳品时发现山羊奶最为适合。这一结论促使羊奶相关特性和功能基因得到进一步的研究。Dagnachew 等进行了酪蛋白相关基因单核苷酸多态性与山羊泌乳量相关性的研究,结果显示 CSN1S1 和 CSN3 的单核苷酸多态性对山羊乳产量、风味及质量有显著的加性效益且起主导作用<sup>[8]</sup>。Daga 等通过 *POUIF1* 基因多态性研究发现,其第 2 外显子 17 位点的变异可使乳产量增加;58 位点的变异通过增加乳中蛋白质和脂肪的含量来提高羊奶质量<sup>[9]</sup>。总的来说,改善山羊奶风味是目前奶山羊育种面临的最迫切也是最重要的问题,而这也是将来开展相关研究的方向。

2.4 影响产绒或产毛性状的功能基因

除去研究人员普遍认同的角蛋白基因和角蛋白辅助蛋白基因外,Lan 等将对乳产量有显著影响的泌乳素(PRL)基因和对 PRL 有正调节作用的 *POUIF1* 基因多态性与山羊绒性状进行相关性分析<sup>[10-11]</sup>,结果发现 PRL 基因有一特殊变异与绒长度相关,且其等位基因为 C 时山羊绒更长;*POUIF1* 的

TT 基因型与山羊绒产量正相关。Lan 等发现能提高乳产量的功能基因也与绒产量相关,从而为白绒山羊产绒量的提高提供了辅助选择的分子标记。繁殖性状相关功能基因与绒产量关系的探讨也是十分重要的。刘斌等选择褪黑激素受体(melatonin receptor,MTNR)基因来进行研究,结果在 *MTR1b* 基因外显子 2 中检测到 AA、AB、BB 3 种基因型<sup>[12]</sup>。通过与山羊绒相关性分析发现:AA 基因型对绒产量有显著影响;与年龄的互作效应对山羊绒厚度有显著影响,对绒细度存在边际显著影响。

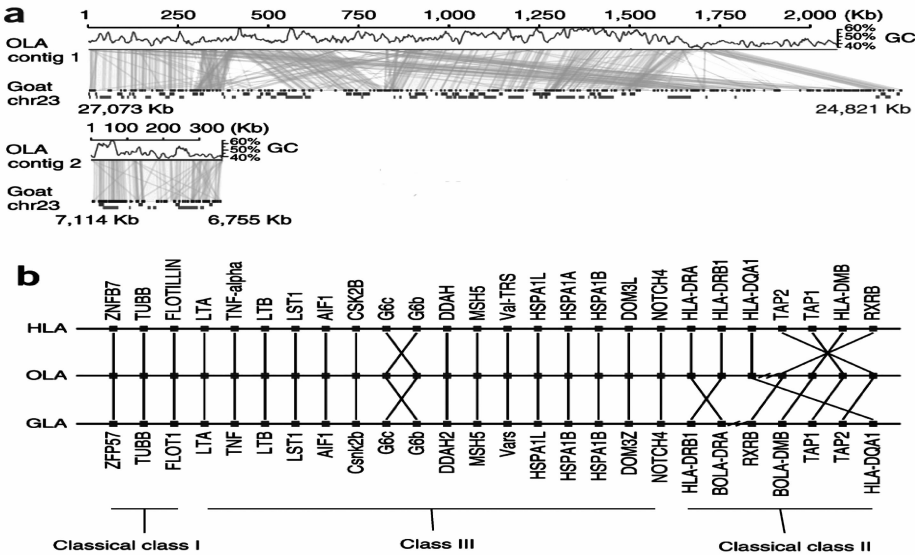
2.5 山羊免疫相关功能基因

主要组织相容性复合体(MHC)在动物免疫应答反应中起着重要作用。更为重要的是 MHC 可识别并清除外在抗原且有多个高度多态的基因位点都与免疫相关。以前关于山羊 MHC 的研究多集中在 Class II 区 DR 和 DQ 亚区基因的多态性上,而最近公布的山羊全基因组图谱对山羊 MHC 进行了整体研究。研究发现,山羊 MHC 位于 23 号染色体,由 2 个大小分别为 2.25 Mb 和 360 kb 的区域组成。与绵羊 MHC 相比,山羊 MHC 含有 160 个基因,比绵羊 MHC 少了 16 个。Dong 等通过基因注释对绵羊、山羊和人 MHC 上的保守基因进行分析,发现有些保守基因有倒置情况,但总体来说它们的保守基因表现出高度共线性<sup>[13]</sup>。它们比较分析的具体情况见图 1。

3 山羊基因组学研究进展

3.1 山羊遗传连锁图谱构建

遗传图谱能够显示遗传标记在连锁群上的相对位置,也能帮助非模式生物运用比较基因组学进行相关研究。遗传图谱的构建是发现近缘物种间适应表型差异遗传机制的第一步。因此,Vaiman 等早在 1996 年时就用 12 个半同胞家系山羊(萨能奶山羊和阿尔卑斯山羊参与杂交)构建得到山羊低分辨率连锁图谱<sup>[14]</sup>。该连锁图谱全长为 2 300 cM,由 219 个微卫星标记组成,标记物种来源于牛(占总标记数的 74.9%),绵羊(占总标记数的 20.5%)和山羊(占总标记数的 4.6%)。其中 204 个微卫星标记整合进了连锁群,其余的用荧光原位杂交(FISH)法得以物理定位。该山羊连锁图谱虽然分辨率低,却是目前构建最完整的山羊遗传连锁图谱,占山羊基因组的 80%。此外,徐磊等、王敏等对绒山羊的 11 号

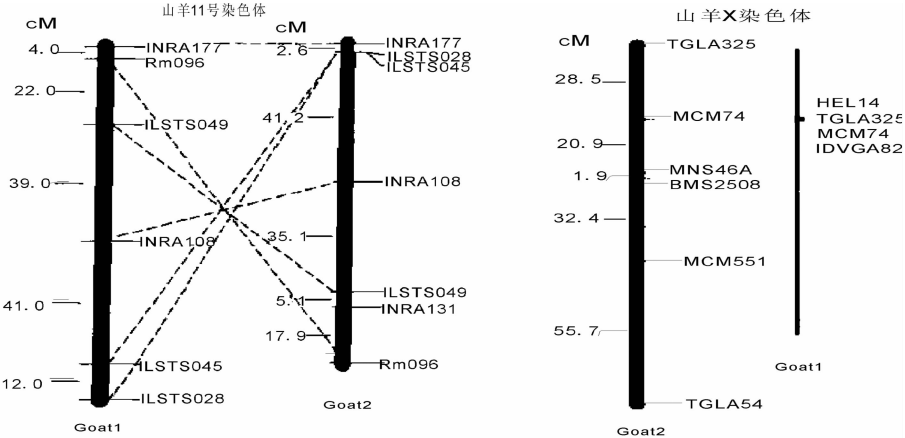


1.山羊MHC图谱以及山羊MHC和绵羊MHC（OLA）的共线性。细线表示山羊MHC和OLA的共线关系。图中只标出了山羊MHC上的基因。2.山羊MHC（GLA）、OLA和人MHC(HLA)的保守基因用黑线连接。

图1 山羊MHC的比较分析<sup>[13]</sup>

染色体和 X 染色体用 SSR 技术构建了连锁图谱,其中徐磊等构建的 X 染色体遗传连锁图谱与英国罗斯林研究所公布的

SM 4.7 绵羊连锁图标记顺序一致<sup>[15-16]</sup>。他们与 Vaiman 等所构建的遗传图谱的比较见图 2。



①Goat1为Vaiman等构建的山羊低分辨率连锁图谱, Goat 2是内蒙古白绒山羊连锁图谱;  
②右侧表示微卫星标记位点,左侧表示标记间的距离

图2 山羊11号染色体和X染色体遗传连锁图谱

### 3.2 山羊基因组测序

3.2.1 山羊线粒体基因组 Parma 等在 2003 年首次完成了长度为 16 640 bp 的山羊线粒体基因组的全部测序工作<sup>[17]</sup>。其中包括了 rRNA(12S 和 16S)、22 个 tRNA 和 13 个蛋白编码区的基因序列。通过比较山羊、牛和绵羊的蛋白编码区基因,发现山羊与牛之间的差异为 1.2% ~ 12.2% (均值为 7.3%) ;山羊与绵羊之间的差异范围是 0 ~ 15.6% (均值为 4.7%) 。只从差异均值来看,山羊与绵羊的亲缘关系更近。Hassanin 等<sup>[18]</sup>对山羊线粒体基因组进行了重测序,通过与 Parma 等公布的序列比较发现其测序结果存在很多错误;Parma 等所测基因组序列仅占总长度的 44.5% ;1 201 nt 和 2 384 nt 片段测序错误率极高。此外,Hassanin 还发现了核线粒体假基因 (Numt) 的存在,并通过克隆最终得到 2 个 Numt 序列。通过对髯羊 (*Ammotragus*)、山羊 (*Capra*)、塔尔羊 (*Hemitragus*) 和

岩羊 (*Pseudois*) 假基因系统发育学方面的分析,推测出它们拥有共同的祖先。

3.2.2 山羊全基因组 虽然我国山羊分布范围及经济效益明显大于绵羊,但与绵羊相比山羊基因组的研究严重滞后。近期中国科学院昆明动物研究所联合国内外大学展开了山羊基因组的研究,并于 2012 年 12 月公布了全球首个山羊全基因组图谱,同时建立了山羊基因组和转录组数据库。研究中,Dong 等采用第 2 代测序技术 (NGS) 对 1 只雌性云南黑山羊 2.66 Gb 的基因组进行了测序<sup>[13]</sup>。测序所得短序列通过基因组酶切图谱 (whole - genome mapping) 技术和传统的组装方法进行拼接得到超长 scaffold,然后利用与牛的保守共线性 (conserved synteny) 将 scaffold 定位到染色体上。将所测基因组从蛋白编码基因、非蛋白编码基因、转座子和基因家族 4 个方面进行基因注释,共得到 22 175 个蛋白编码基因,其中

17 927 个基因也在转录组测序中检测到。对注释基因的分析主要从基因家族进化和正选择基因 2 个方面进行。

从基因家族进化方面分析注释基因发现山羊与牛有 17 129 对直系同源基因,与人类有 16 771 对直系同源基因。在所构建的系统树图中可以看出山羊和牛在 2 300 万年前有共同祖先。但在将与基因组和基因进化相关的转座子进行比较时发现,牛基因组中 SINE - BovA 型的转座子多,而山羊基因组中则是 SINE - tRNA 转座子数量大。在将山羊基因组中各种类型的转座子分化程度进行分析时发现较近时期分化的转座子很少。在正选择基因方面主要研究了和免疫相关的主要组织相容性复合体(MHC)。MHC 的详细信息对山羊的免疫和接种具有重要价值。

#### 4 山羊转录组学和蛋白质组学研究进展

基于山羊的重要经济价值,山羊转录组学和蛋白质组学研究集中在山羊绒。Dong 等通过对绒山羊初级毛囊和次级毛囊转录组的比较分析得到山羊绒的功能基因<sup>[13]</sup>。研究表明,2 个角蛋白基因和 10 个角蛋白辅助蛋白基因在羊绒纤维结构中起着重要作用;纤维母细胞生长因子 21 基因、酪蛋白激酶 I $\epsilon$  基因与山羊绒性状相关;山冬氨酸合成酶、磷酸丝氨酸转氨酶、 $\alpha$ -1 蛋白、桥粒芯蛋白等与毛囊发育和毛囊形态发生有关。其中角蛋白辅助蛋白可分为高硫角蛋白辅助蛋白、超高硫角蛋白辅助蛋白和高甘氨酸酪氨酸蛋白三大类<sup>[13]</sup>。他们在 3 类角蛋白辅助蛋白的进一步研究中发现超高硫角蛋白辅助蛋白对羊绒的形成起着十分重要的作用。松杰等通过构建绒山羊皮肤蛋白质双向电泳图谱,对绒山羊皮肤的蛋白质分布和表达情况有了全面了解,为绒山羊皮肤蛋白质组成和差异蛋白质的研究奠定了基础<sup>[19]</sup>。

#### 5 小结与展望

虽然山羊分子生物学方面的研究在逐年增加并取得了不少的成绩,但仍不能满足山羊市场快速增加所产生的需求。最近山羊全基因组序列的公布和转录组方面的研究拓展了山羊功能基因的研究方法,为山羊生长发育、生理机理、抗病机理分子机制的研究奠定了基础,为构建山羊基因芯片、分析预测基因功能拓展了研究空间。但不可否认的是山羊基因组、转录组和蛋白质组的研究起步较晚,还有很多相关信息需要进一步地分析鉴定。现如今山羊功能基因的研究被局限在了功能基因单核苷酸多态性与生产性能相关性的研究上,而其研究方法多是根据牛和绵羊的相关研究成果进行的。更不利的是,功能基因多态性的研究因山羊品种、所处环境等存在差异。就目前的研究而言,山羊主效功能基因仍未被发现。因此,还必须对大量未知的和已知的基因和蛋白进行更为详尽的分析和鉴定,从而为山羊主要经济性状的遗传改良提供理论依据和技术支撑,为山羊的良种繁育、遗传多样性的保护奠定基础。

#### 参考文献:

[1] Lin BZ, Odahara S, Ishida M, et al. Molecular phylogeography and genetic diversity of East Asian goats[J]. *Animal Genetics*, 2013, 44 (1): 79 - 85.

[2] 王 杰,陈玉林,杨朝霞. 中国山羊 mtDNA D-loop 遗传多态性研究[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(4): 1743 - 1745.

[3] 王志刚,吴建平,刘丑生,等. 用微卫星标记分析中国山羊品种的遗传多样性和群体遗传结构[J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18 (5): 836 - 845.

[4] Hua GH, Chen SL, Yu JN, et al. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks[J]. *Meat Science*, 2009, 81(2): 391 - 395.

[5] Zhang C, Liu Y, Xu D, et al. Polymorphisms of myostatin gene (*MSTN*) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance[J]. *Molecular Biology Reports*, 2012, 39(3): 3081 - 3087.

[6] Ahlawat S, Sharma R, Maitra A. Screening of indigenous goats for prolificacy associated DNA markers of sheep[J]. *Gene*, 2013, 517 (1): 128 - 131.

[7] 颜泉梅,陈秋菊,崔易虹,等. 西农莎能奶山羊和布尔山羊 *GnRH* 基因多态性与产羔数的相关分析[J]. *中国兽医学报*, 2011, 31 (11): 1667 - 1671.

[8] Dagnachew B S, Thaller G, Lien S, et al. Casein SNP in norwegian goats: additive and dominance effects on milk composition and quality[J]. *Genetics Selection Evolution*, 2011, 43: 31.

[9] Daga C, Paludo M, Luridiana S, et al. Identification of novel SNPs in the Sarda breed goats *POU1F1* gene and their association with milk productive performance[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40 (4): 2829 - 2835.

[10] Lan X Y, Pan Ch Y, Chen H, et al. Novel SNP of the goat prolactin gene (*PRL*) associated with cashmere traits[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2009, 50(1): 51 - 54.

[11] Lan X Y, Shu J H, Chen H, et al. A PstI polymorphism at 3'UTR of goat *POU1F1* gene and its effect on cashmere production[J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36(6): 1371 - 1374.

[12] 刘 斌,李金泉,赵存发,等. 内蒙古白绒山羊褪黑激素受体基因 *SNP* 与产绒性状的关联[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(19): 4092 - 4101.

[13] Dong Y, Xie M, Jiang Y, et al. Sequencing and automated whole - genome optical mapping of the genome of a domestic goat (*Capra hircus*) [J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(2): 135 - 141.

[14] Vaiman D, Schibler L, Bourgeois F, et al. A genetic linkage map of the male goat genome[J]. *Genetics*, 1996, 144(1): 279 - 305.

[15] 徐 磊,姚继广,杨子森,等. 绒山羊 X 染色体 7 个微卫星标记的遗传连锁图谱的构建[J]. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(7): 109 - 112.

[16] 王 敏,赖双英,乔 峰,等. 绒山羊 11 号染色体 7 个微卫星标记的连锁图谱的构建[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(4): 132 - 136.

[17] Parma P, Feligini M, Greeppi G, et al. The complete nucleotide sequence of goat (*Capra hircus*) mitochondrial genome[J]. *DNA Seq*, 2003, 14(3): 199 - 203.

[18] Hassanin A, Bonillo C, Nguyen B X, et al. Comparisons between mitochondrial genomes of domestic goat (*Capra hircus*) reveal the presence of numts and multiple sequencing errors[J]. *Mitochondrial DNA*, 2010, 21(3 - 4): 68 - 76.

[19] 松 杰,董 扬,孟丽云,等. 内蒙古绒山羊皮肤蛋白质双向电泳条件优化及图谱建立[J]. *中国畜牧兽医*, 2012, 39(7): 11 - 14.