

朱春红, 李强, 张德敏, 等. 德州驴多脊椎性状研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (6): 135-141.

ZHU C H, LI Q, ZHANG D M, et al. Advances in research on multi-vertebral trait of Dezhou donkeys [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (6): 135-141.

德州驴多脊椎性状研究进展

朱春红¹, 李强², 张德敏², 宋磊², 胡洪杰², 刘育含^{2*}

(1. 平邑县畜牧发展促进中心, 山东 平邑 273300;

2. 山东省畜牧总站, 山东 济南 250102)

摘要: 多脊椎性状描述的是动物的脊椎数量相较于正常个体有所增长的现象, 是有益变异。德州驴的胸腰椎数增多能增加其体尺和胴体重, 提高产肉、产皮性能, 进而提升经济价值。德州驴多脊椎性状显示出较高的遗传力, 这为其在遗传优化过程中展现出优良生产性能提供了可能。本文对德州驴的多脊椎数性状、候选基因鉴定的研究方法和德州驴脊椎数性状候选基因三个方面进行了综述, 以期分析德州驴多胸腰椎性状的遗传基础, 改善德州驴的经济性状及培育优良品种提供思路。

关键词: 德州驴; 多脊椎性状; 候选基因

中图分类号: S822 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)06-0135-07

Advances in research on multi-vertebral trait of Dezhou donkeys

ZHU Chunhong¹, LI Qiang², ZHANG Demin², SONG Lei², HU Hongjie², LIU Yuhan^{2*}

(1. Livestock Development Promotion Center of Pingyi County, Pingyi 273300, China;

2. Shandong Province Animal Husbandry General Station, Jinan 250102, China)

Abstract: The multi-vertebral trait describes an increase in the number of vertebrae in animals compared with normal individuals. This trait is a beneficial variation. The increase in the number of thoracolumbar vertebrae can improve the body size and carcass weight of Dezhou donkeys, increase their performance of meat and skin production, and increase their economic value. The high heritability of the multi-vertebral trait of Dezhou donkeys provides a possibility for its excellent production performance in the process of genetic optimization. In this paper, the multi-vertebral trait, the methods of research on candidate genes identification and on the candidate genes of the multi-vertebral trait of Dezhou donkeys are reviewed, in order to provide ideas for analyzing the genetic basis of the multi-vertebral trait, improving the economic traits and breeding superior breeds of Dezhou donkeys.

Keywords: Dezhou donkey; multi-vertebral trait; candidate genes

近几年, 由于人们生活质量的提升和饮食习惯的调整, 阿胶、驴肉和驴奶等驴产品的需求逐渐增加, 驴产业发展氛围愈加浓厚。德州驴是我国高质量大型驴品种的代表之一, 具有体躯高大、体质坚实、耐粗饲、抗逆性强等优点。但其产肉、产皮性能均不突出, 因而培育具有高肉皮产量、能够规模化饲养的新品种系是极其有价值的^[1]。脊椎数性状是驴重要经济性状, 增加其数量能使驴的产肉、产皮量上升, 生产性能和经济效益提高^[2]。在生物学表型发生的分子机制研究中, 筛选和确定功能基因是至关重要的环

节。已有许多研究表明, 利用分子生物学技术, 有能力挖掘德州驴脊椎数性状候选基因并作为分子标记, 推进德州驴多脊椎品种育种工作。

1 德州驴脊椎骨的组成与变异

脊椎动物的脊柱主要由一系列不成对的椎骨构成, 这些脊椎主要包括颈椎、胸椎、腰椎、荐椎及尾椎。脊椎数作为一个关键的经济特征, 具有较高的遗传力^[3]。不同的哺乳动物具有不同的脊椎数, 并能出现多脊椎遗传变异, 即在某物种中一些个体的胸椎和腰椎数量超过正常个体的现象。在畜牧生产中, 多脊椎数变异被认为是一个有利突变。此变异可以导致动物的腰腹部长度和肋骨数量增加, 胴体质量、肉皮产量增加, 生产性状提升。因此, 在驴种群中开展多脊椎数的定向选育, 比传统的体尺、体重和外观评分

收稿日期: 2025-01-07; 修回日期: 2025-04-28

基金项目: 山东省驴产业技术体系项目 (SDAIT-27-09)

第一作者: 朱春红, 女, 本科

*通信作者: 刘育含, 博士, 高级畜牧师, 主要从事畜牧技术推广工作, E-mail: lyhzero@126.com。

选择手段更为快速有效。揭示德州驴多脊椎遗传机制,把胸腰椎数量性状作为选育标准之一,对有效改善德州驴的经济性状、培育优良品种系有重要意义^[2]。

对于马属动物,现已存在一些脊椎数变异的报道。家马、斑马和杂交后代的胸椎(T)数一般为18节,腰椎(L)数一般为6节,其中胸椎数可变异为17和19节^[4]。马属动物经常缺失第5腰椎。与一般家马的腰椎数6节不同,阿拉伯马腰椎数通常为5节,此变异使得其在运输货物时更为便捷^[5]。在对德州驴的屠宰试验中,观察到德州驴存在17、18、19节3种胸椎类型,5、6节2种腰椎类型,按总数共有22节(T17L5)、23节(T17L6、T18L5)和24节(T18L6、T19L5)3种胸腰椎形态^[7]。其中T18L5占总数的75.8%,T17L5占总数的2.4%,多胸腰椎数T17L6、T18L6、T19L5组合分别占总数的11.9%、8.8%和1.1%^[6]。另有试验发现此5种胸腰椎数组合中,T18L5数量最多,占74.6%;T19L5数量最少,占1.4%。从胸腰椎单数来看,18节胸椎占85.2%,是优势胸椎型;5节腰椎占78.6%,是优势腰椎型。从胸腰椎总数来看,23节胸腰椎组合占比最大,为85.4%;22节胸腰椎组合占比最小,为2.6%^[8]。

德州驴的体高、体长、胸腰椎总数及胸椎数的遗传力分别为0.67、0.58、0.50、0.61,均属于高遗传力性状^[9]。相关性分析表明,德州驴的体长和胴体重等生产性状显著受胸腰椎数影响,多脊椎数变异能有效增加经济效益^[9-10]。报道指出,德州驴每增加一节胸椎体长增加5.14 cm,胴体重增加11.17 kg,皮重增加1.28 kg;每增加一节腰椎体长增加2.1 cm,胴体重增加2.83 kg,皮重增加0.37 kg^[10]。另有统计发现,多一根胸椎体长平均增加4.3 cm,多一根腰椎体长平均增加2.4 cm;多一根椎骨净肉重增加7.2 kg,皮重增加0.65 kg^[6]。3种脊椎数类型中,24节胸腰椎型德州驴个体的平均体长最长,并且多一节胸椎比多一节腰椎更能使个体的体长增加;22节胸腰椎型平均胸围长度最短,多脊椎数变异可扩增个体的胸腔大小。此外,24节胸腰椎型德州驴中,T19L5个体占比较小,不利于进行选育,可通过T18L6个体进行良种培育^[10]。

2 候选基因鉴定的研究方法

随着结构基因组学的深入研究和高通量的分子技术的飞速发展,功能基因组学应运而生^[11]。通过基因组测序可以全面分析基因的各种功能,如结构编码基因、小分子RNA、非编码RNA与代谢产物等。通过基因组功能信息的提取、鉴定和开发利用,研究基

因表达的调控机制,筛选影响表型性状的功能基因或遗传标记,以此对畜禽进行基因型或标记辅助选择,推进选育进展。鉴定候选基因的方法主要有全基因组扫描、全基因组关联分析、二代测序技术和CRISPR-Cas9筛选技术等^[12]。

2.1 全基因组扫描

全基因组扫描是指利用DNA多态性标记如微卫星多态标记(STR)或消减杂交等方法,逐点筛查扫描全基因组,挖掘潜在的性状候选基因。此方法在速度、准确性和效率方面表现出色,已广泛应用于畜禽各种性状候选基因的筛选中^[13-14]。通常用统计软件进行遗传统计,确定与目的性状相连锁的数量性状位点(QTL),经提升扫描密度或单倍型分析等手段,精确定位QTL。再由基因组注释筛选候选基因并进行多态性分析,鉴定候选数量性状核苷酸(QTN),最终实现QTN的功能分析与验证^[15]。2000年研究人员首次使用全基因组扫描对多脊椎性状QTL进行定位,并定位到1号(SSC1)和2号(SSC2)染色体上^[16]。

2.2 全基因组关联分析(GWAS)

1996年,研究团队首次提出全基因组关联分析(GWAS)这一方法。该技术主要基于连锁不平衡(LD),利用高、中密度单核苷酸多态性(SNPs)芯片,借助全基因组的分子标记进行整体关联分析,通过统计学分析和鉴定数量性状功能候选遗传变异^[17-18]。

与传统的数量性状位点定位方法相比,GWAS能通过整个基因组高密度标记,捕获足够的LD,进而识别大部分潜在的因果变异;而且能同时测定相同位置上的多对等位基因,直接精准定位到单个核苷酸。目前GWAS已被广泛应用于标记和研究畜禽的各种复杂性状和候选基因,成为遗传学研究的新兴策略和主流工具。单核苷酸多态GWAS(SNP-GWAS)具有识别遗传力较弱的QTL及次级等位基因频率的能力,因此该方法在多数实验中被用于发掘脊椎数性状候选基因^[19]。至今已实现德州驴基因组在染色体水平上的装配,自此可利用测序进行驴的全基因组关联研究。对德州驴血液样本开展线性混合模型生长性状的GWAS后,发现34个显著性SNP位点,筛选到26个候选基因,分别与初生体长、胸宽、管围、尻宽和尻高相关^[20]。

2.3 二代测序技术

二代测序技术(NGS)是一种高通量测序技术,又称深度测序。此法同时对大量DNA片段进行测序,采用边合成边测序的原理进行测序反应,对获得序列进行拼接和分析,完成SNP及基因组结构注释。与

传统的测序技术相比,具有高通量、快速度、低成本等优点,为高效挖掘和应用遗传信息提供了更可靠的依据。NGS 主要包括全基因组测序、全基因组甲基化测序和转录组测序等^[21]。

2.3.1 全基因组测序 (WGS)

全基因组测序能从全基因组角度上分析畜禽的进化规律,挖掘功能基因,主要有全基因组从头开始测序 (de novo) 和重测序 (Re-Seq) 2 种方法^[22]。

全基因组 de novo 测序是指对没有参考序列或近缘物种基因组物种的全基因组序列的测序。随后通过生物信息学手段对序列进行拼接、组装和注释,获得该物种全基因序列图谱,主要用于基因组 survey 评估、物种进化分析等。Re-Seq 是指对已知参考序列的物种进行不同个体或群体的全基因组测序。此法可在个体或群体水平上进行差异性分析,多方面挖掘基因序列的差异和结构变异,如 SNP、插入缺失突变 (InDel)、拷贝数变异 (CNV) 和结构变异 (SV) 等,主要用于个体基因组变异检测、突变体功能突变位点定位、群体遗传学分析、全基因组关联分析等^[22-24]。

WGS 在研究各物种的进化历程和筛选其候选基因中得到了普遍运用。2015 年,全球首个完整的家驴基因组发布,这为驴的进化 and 功能基因的深入挖掘提供了宝贵的数据支持。随后,通过 Chicago HiRise 技术,驴基因组的组装得以改善。目前通过全基因组测序对德州驴候选基因的筛选主要集中在毛色、体尺、肉质、繁殖等性状,在多脊椎方面的研究较少^[25-26]。然而,特别是对于畜禽而言,高深度重测序对于大规模基因组分析来说仍然过于昂贵。低深度重测序 (lcWGS) 是基于 1 倍及以下的低测序深度水平下的 WGS 技术,此方法可显著降低成本,但基因组覆盖度较低,可通过插补恢复缺失的基因型。lcWGS 后插补已被证明是获取 GWAS 全基因组序列数据的可行策略^[27-28]。有报道表明,通过 lcWGS,共鉴定出与德州驴胸椎数相关的 38 个全基因组显著和 64 个潜在的 SNPs, 7 个有关基因;鉴定出与腰椎数相关的 9 个全基因组显著和 38 个潜在的 SNPs, 8 个有关基因。这些基因比如 WNT7A、BMP7、LRP5 等参与 Wnt 和 TGF- β 信号通路,可能在胚胎发育或骨形成中发挥重要作用,是德州驴胸腰椎数潜在的候选基因^[29]。

2.3.2 全基因组甲基化测序

DNA 甲基化是指在 DNA 甲基化转移酶的催化下,通过甲基供体将甲基转移到胞嘧啶上的过程。它可以使染色质结构、DNA 构象和稳定性、DNA 与蛋白质互作发生转变,从而在基因转录中发挥调控作

用。通常 DNA 甲基化可抑制基因的表达^[30]。

全基因组甲基化测序 (WGBS) 是在新一代 NGS 平台的前提下,结合全基因组重亚硫酸盐处理,对基因组 DNA 进行高精度全覆盖的甲基化分析,检测生物体基因组中 DNA 甲基化位点的技术^[30-31]。WGBS 具有精确度高、检测范围广泛、可靠性高等优点,对表观遗传学的时空特异性研究具有重要意义。WGBS 分析牛背最长肌组织,发现存在甲基化差异区域,且这些区域通过 miRNAs 调控基因表达,影响其发育和肌肉生长^[32]。通过 WGBS 对牛、绵羊和山羊的肝脏、骨骼肌、大脑组织以及精子细胞测序,分析了物种间特异的 DNA 甲基化区域,同时也鉴定出 3 种重要反刍家畜复杂性状的相关分子标记^[33]。这些研究为畜禽候选基因的研究开辟了新的研究途径和工具。

2.3.3 转录组测序 (RNA-seq)

转录组测序也称 RNA 测序,是一种对生物体内全部转录产物反转录形成的 cDNA 片段进行测序的技术。基于 NGS 的 RNA-seq 能定量检测基因表达,挖掘新的转录本,分析基因结构变异,识别可变剪切事件、基因融合、RNA 编辑,识别基因表达调控网络,是揭示基因功能和调控机制的关键途径^[34-35]。和常用的芯片杂交技术相比, RNA-seq 无需预先准备对已知序列设计探针,通过从头组装法,获得各转录本的相对表达水平、转录区域结构, SNP 位点及准确的基因表达图谱,可对全体物种的全部转录活动进行检测。所以此方法测序准确性高、灵敏度高,检测通量高、检测范围广,且所需样本量低、成本低^[35]。典型的 RNA-seq 步骤分为 RNA 提取、文库构建、DNA 成簇扩增、高通量测序和数据分析。到目前为止, RNA-seq 在德州驴转录组研究上得到了较为广泛的应用,揭示了与生长发育、肌肉生长、肉质和繁殖等相关的潜在候选基因^[20,36-40]。

2.4 CRISPR-Cas9 筛选技术

基因编辑,即利用基因定点“编辑”修饰机体目标基因特定 DNA 片段的技术。此方法能高效、准确、灵活地进行基因插入、敲除、修改或替换,使遗传信息和表型特征产生变化。目前主要有锌指核酸酶 (ZFNs)、类转录激活样效应物核酸酶 (TALENs) 和成簇规律间隔短回文重复序列-相关核酸酶 (CRISPR-Cas9) 三代基因编辑技术,而 CRISPR-Cas9 技术因操作便捷、周期短、成本低、毒性小等优点,已成为应用最广泛的基因编辑技术^[41]。

CRISPR-Cas9 主要是通过一段与目标 DNA 序列互补的单一向导 RNA (sgRNA) 对靶基因进行定位,引导 Cas9 酶作用识别并结合到目标 DNA 序列上,进而在 PAM 序列处进行双链 DNA 切割,从而实现基因

的修饰^[41-42]。一般 CRISPR-Cas9 的操作步骤分为 gRNA 设计、构建表达载体、细胞转染或转导、筛选编辑细胞及基因编辑分析。由于其稳健性和灵活性, CRISPR 已成为一种多功能工具, 包括基因表达调控、表观修饰编辑、单碱基编辑和染色质成像工具, 而 Cas9 变体已应用于各种基因组靶向研究工作中^[42]。随着基因编辑技术的日益成熟, 它已为畜禽基因研究提供强有力的技术支撑, 如生殖细胞发育及增殖、性别确定、模型构建等^[43-44]。

3 影响德州驴脊椎数性状相关候选基因

哺乳动物在胚胎发育过程中经历了受精、卵裂、囊胚、原肠胚、中胚层、神经胚、胚层分化与器官形成等关键阶段, 而脊椎的发育是以中胚层的生骨节细胞环绕脊髓和脊索为基础^[2,17]。其中初级神经胚发育形成颈椎和胸椎, 次级神经胚发育形成腰椎和尾椎。此发育过程是一个涉及多基因家族、多个信号通路的繁杂进程, 如 Wnt 信号通路、成纤维细胞生长因子 (FGF) 信号通路、Notch 信号通路、HOX 基因家族及其信号通路、骨形态发生蛋白 (BMP) 等。运用高通量分子技术和全基因组测序后, 已挖掘到多个德州驴多脊椎数性状的候选基因^[2,7-9]。发掘德州驴脊椎数主效基因和因果突变位点以进行分子辅助选择可提高德州驴生产效率, 加快育成多脊椎新品系。

3.1 NR6A1 基因

目前已发现位于 1 和 7 号染色体的与椎骨数相关的两个 QTL 位点。其中, 1 号染色体上的生殖细胞核因子 (NR6A1) 与德州驴脊椎数相关。NR6A1 是核受体亚家族 6A 组成员 1, 在胎盘、神经系统、生殖系统中都有表达, 调节生长发育等多种生命活动^[15,45]。

生物信息学分析发现德州驴 NR6A1 半衰期较长, 蛋白稳定性较差。序列相似性比对证实, 德州驴与人、牛、猪等 8 种物种 NR6A1 基因核苷酸序列一致性大约为 20%, 差异较大^[10]。德州驴 NR6A1 突变位点的遗传多态信息含量 (PIC) 在 0.417 至 0.506 之间, 表明其遗传多样性适中^[6]。NR6A1 基因上共存在 19 个基因突变位点, 14 个为单核苷酸突变, 4 个为缺失位点, 1 个为插入缺失位点。其中, g. 2237358del13bp、g. 2238183delA 与 g. 2211668delT 分别是使德州驴胸围和胸椎长度、胸围、体高和胸围变异的因果突变位点。g. 2230648G>T 多态性显著影响体高、胴体重, g. 2230404T>C 多态性显著影响体高、胸围和皮重。g. 2229161C>G 与体高和腰椎长度的变异具有关联, g. 2213153G>C 可调控体高变化。g. 2208980A>G 与腰椎数目、腰椎长度和胸腰椎总数

的变异具有关联, g. 2208714T>C 可调控胸围、腰椎数目和胸腰椎总数^[10]。另有研究发现, NR6A1 基因有 7 个单核苷酸变异 (SNVs) (g. 18093100G>T, g. 18094587G>T, g. 18106043G>T, g. 18108764G>T, g. 18110615T>G, g. 18112000C>T 和 g. 18114954T>G) 分别与德州驴的脊椎数、体型和胴体性状相关。单倍型组合关联分析表明, Hap2Hap2 纯合子个体比 Hap3Hap3 的单胸椎、整个胸椎和单胸腰椎长度明显更长^[6]。

3.2 VRTN 基因

VRTN 基因由特定的蛋白质编码而来, 具有特异性 DNA 序列连接位点和转座酶活性。VRTN 是影响胸椎发育的关键基因, 位于 7 号染色体上。VRTN 可通过 Notch 信号途径调节脊柱生长发育, 直接影响脊椎与肋骨数量, 间接影响生产性能。研究发现, VRTN 中与胸椎数相关性最大的有 4 个 SNPs, 且在胚胎胸部体节发育期表达较高; 且 VRTN 基因调节胸椎数机制假设模型显示, 该基因的表达水平上升能加快中胚层内细胞间 Notch-Delta 的偶联速度, 促进 Notch 通路的信号转导, 缩短分节时钟周期, 增加体节数和胸椎数^[46-47]。

重测序结果表明, 德州驴 VRTN 基因全长 2 137 bp, 由一个外显子组成, 无内含子。与其他哺乳动物对比, 德州驴核苷酸序列的相似性都大于 49%, 序列同源性低, 代表着 VRTN 在进化过程中较为保守。德州驴 VRTN 基因上存在 11 个基因突变位点, 其中 g. 3645735G>A 是使德州驴胴体重、胸椎数目、胸椎长度和胸腰椎总长度变化的多态性位点。连锁位点 g. 3644436A>G 与 g. 36444438G>A 是使胸椎数目、胸椎长度变化的因果突变位点。g. 3648666C>A、g. 3648729C>T、g. 3648675C>T、g. 3649227C>T、g. 3648700T>C 是与胴体重、胸椎数和胸椎长度有关联的 5 个完全连锁的多态性位点。位点 g. 3650137C>T 可调控胴体重, g. 3652326A>T 可调控腰椎数目^[10]。

3.3 DCAF7 家族

DCAFs 是一类含“WDXR”结构域的蛋白质家族, 经由泛素化修饰靶蛋白, 调节增殖、分化、凋亡等一系列生命进程。其中, DCAF7 和 DCAF16 基因都属于 DCAFs 家族^[48]。

DCAF7 与生物体生长发育过程密切相关, 包括但不限于颅面部、肌肉、骨骼发育等方面^[48-49]。用 RNA-seq 分析驴的 16 个组织后, 发现 DCAF7 在睾丸中有最高表达量, 在肝脏和软骨中为最低表达量^[50]。DCAF7 位于驴的 13 号染色体上, 包含 8 个外显子和 7 个内含子。据报道, DCAF7 也为调控德州驴多脊椎

性状的候选基因。DCAF7 可通过激活 Notch 信号通路, 调节驴的脊椎体节的增殖与分化^[51]。靶向测序和 Sanger 测序表明, DCAF7 基因一共有 7 个 SNPs, 均位于内含子区域。其中, g. 48985896 A > G、g. 48978712 T > C、g. 48988058 A > G、g. 48987539 C > T 和 g. 48992171 C > T 是使胸椎数变异的因果突变位点, g. 48991059 T > G 位点与皮重显著相关。此外, 单倍型组合 Hap2Hap4 个体的胸椎长度明显比单倍型组合 Hap1Hap2 和 Hap1Hap3 要高。因此 DCAF7 基因可作为培育长胸椎驴品种 of 分子标记^[8]。

NCAPG-DCAF16 区域对机体的生长发育有关键调控作用。GWAS 检测证实该区域可调节多种畜禽的体尺体重、肌肉发育、饲料转化率和采食量等性状^[52-53]。通过混池测序、质谱分型技术检测德州驴 NCAPG-DCAF16 基因区域的多态性 SNPs 位点后, 在 DCAF16 第 2 外显子中观察到一个同义突变; 位点关联分析结果显示, 6 月龄的德州驴 AA 和 GA 基因型个体的体高和胸围明显比 GG 型要高, 暗示着 DCAF16 可能与德州驴的脊椎数有关^[54]。

3.4 HOX 家族

同源异型盒 (HOX) 基因的联合功能控制了脊椎动物沿轴向骨骼的椎体特征的建立, 在进化上高度保守。HOX 的突变会引起动物脊椎不同部位椎骨形态与数量发生变化^[55]。同源框基因 C8 (HOXC8) 和 PROX2 均为 HOX 家族成员, 目前均有报道表明能参与动物脊椎数的调控^[56]。

HOXC8 基因作为转录因子可特异性结合目标基因, 参与调控机体的多项发育过程。HOXC8 的精确定位功能可以帮助机体有效断定确切的脊椎身份^[56]。此外, HOXC8 能调节 BMP 的成骨作用, 胚胎发育晚期和出生后, HOXC8 经由 BMP 和 Wnt 信号通路参与调控成骨细胞的分化^[57]。基因敲除小鼠的 HOXC8 后, 发现第一腰椎转换成胸椎, 且增加了一对肋骨^[58]。分别检索猪、牛、驴等 8 种物种的 HOXC8 基因参考序列, 发现驴的 HOXC8 具有 2 个外显子和 1 个转录本, 且驴 HOXC8 基因最长, 为 3 891 bp^[59]。通过 GWAS 在德州驴 HOXC8 基因中鉴定出 12 个 SNPs。其中, g. 15179224 C > T 多态性显著影响胴体重和腰椎总长; g. 15179674 G > A 和腰椎数有关联。此外, g. 15179224 C 等位基因正向调控胴体重和腰椎总长, g. 15179674 G 等位基因负调控腰椎数, 表明 g. 15179224 C > T 可能是使胴体重和腰椎总长增加的限制位点, g. 15179674 G > A 是选育多脊椎数德州驴的遗传标记位点^[9]。

PROX2 包含一个典型的同源异型结构域, 是独特的 PROX 家族中的一员, 广泛存在于多细胞生物

中, 在生长发育等进程发挥着至关重要的作用^[60]。检索猪、牛、驴等 8 种物种的 PROX2 基因序列, 发现驴的 PROX2 有 5 个外显子、1 个转录本, 且物种间同源性较高。有报道显示, PROX2 是德州驴胸腰椎数性状的重要候选基因。分析德州驴 PROX2 基因的遗传多态性, 共发现 7 个 SNPs, 其中 g. 47966961 A > G、g. 47961672 A > G、g. 47960178 C > T、g. 47962197 G > A 是胸围大小变异的因果突变位点; g. 47966961 A > G 多态性显著影响胸椎长度; g. 47964135 A > G 多态性显著影响胸腰椎总数。且与 Hap3Hap4 群体相比, Hap4Hap5 群体各表型值如体高、体长和胴体重均明显更高^[9]。

3.5 PRKG2 基因

依赖 cGMP 的蛋白激酶 2 (PRKG2) 是一个蛋白质编码基因, 位于驴的 3 号染色体上, 包含 18 个外显子和 17 个内含子。PRKG2 可调控机体的生长发育和骨骼发育^[61]。经由靶向测序鉴定后, 确认了德州驴 PRKG2 基因共 15 个 SNPs, 且均位于其内含子区域。关联分析发现, g. 162163775 T > G、g. 162156524 C > T、g. 162153251 G > A 与 g. 162158453 C > T 和胴体重具有关联, g. 162166224 G > A、g. 162166654 T > A、g. 162167165 C > A、g. 162167314 A > C 和 g. 162172653 G > C 是使胸椎数变异的因果突变位点, g. 162140112 A > G、g. 162158453 C > T、g. 162163775 T > G 与 g. 162216538 G > A 分别调控腰椎数、腰椎长度、胸腰椎总数、胸椎长度^[8]。因此, PRKG2 可成为选育具有多胸腰椎数和较好胴体性状德州驴的候选基因。

4 小结

多脊椎现象在畜禽中已相当常见, 但是脊椎数的数量遗传学分析较少, 主要集中在猪的研究上, 关于驴的报道较少。脊椎数和驴的体尺、体重、产肉、产皮等性状密切相关, 是一个关键的经济性状, 值得深入研究。筛选和鉴定基因功能单元、挖掘出调控表型性状的功能基因或分子标记, 可实现对驴的基因型或标记辅助选择, 推进选育进展。近年, 研究人员通过基因组测序如基因组扫描、全基因组关联分析、二代测序技术等手段, 成功定位到了多个影响德州驴脊椎数性状相关候选基因, 如 NR6A1、VRTN、DCAF7、HOXC8、PROX2、PRKG2 等。这种从全基因组水平寻找影响脊椎数的遗传变异, 利用功能基因组学来筛选候选基因的方法不仅方便、极大地简化了步骤, 还能实现精细定位和判定, 范围更加精准, 提升了德州驴多脊椎候选基因应用于标记辅助选择育种, 通过增加胸腰椎数来提高其肉皮产能等关键性状, 可有效提高

其生产效率和经济效益, 推动驴产业健康可持续发展。

参考文献:

- [1] ZHANG Z, ZHAN Y, HAN Y, et al. Estimation of liveweight from body measurements through best fitted regression model in Dezhou Donkey breed [J]. *J Equine Vet Sci*, 2021, 101 (5): 103457.
- [2] 黄洁萍, 张明明, 马云, 等. 家畜多脊椎性状研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44 (8): 2386-2391.
- [3] BORCHERS N, REINSCH N, KALM E. The number of ribs and vertebrae in a Piétrain cross: variation, heritability and effects on performance traits [J]. *J Anim Breed Genet*, 2004, 121: 392-403.
- [4] STECHER R M. Anatomical variations of the spine in the horse [J]. *J Mammal*, 1962, 2: 205-219.
- [5] JAMDAR M N, EMA A N. A note on the vertebral formula of the Donkey [J]. *Br Vet J*, 1982, 138 (3): 209-211.
- [6] LIU Z, GAO Q, WANG T, et al. Multi-thoracolumbar variations and NR6A1 gene polymorphisms potentially associated with body size and carcass traits of Dezhou Donkey [J]. *Animals*, 2022, 12 (11): 1349.
- [7] 王天琦. DCAF7、LCORL 和 PRKG2 基因遗传变异与德州驴胸腰椎椎数量及胴体性状的相关性研究 [D]. 聊城: 聊城大学, 2023.
- [8] 刘紫雯. PLAG1 及 LTBP2 基因突变与德州驴胸腰椎数目及体格形态的相关性研究 [D]. 聊城: 聊城大学, 2022.
- [9] 史晓渊. HOXC8 及 PROX2 基因遗传变异与驴胸腰椎椎数量及生产性状的相关性研究 [D]. 聊城: 聊城大学, 2023.
- [10] 高琦臻. 德州驴种质资源研究 [D]. 济南: 山东师范大学, 2020.
- [11] NAGY L G, MERÉNYI Z, HEGEDŰS B, et al. Novel phylogenetic methods are needed for understanding gene function in the era of mega-scale genome sequencing [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: 2209-2219.
- [12] 姚雅馨, 喇永富, 汤继顺, 等. 功能基因筛选方法的研究进展 [J]. *中国草食动物科学*, 2020, 40 (1): 35-41.
- [13] 张安平, 张学军, 朱元元. 疾病相关基因定位的全基因组扫描策略与方法 [J]. *疾病控制杂志*, 2001, 5 (2): 135-138.
- [14] MIKAWA S, MOROZUMI T, SHIMANUKI S, et al. Fine mapping of a swine quantitative trait locus for number of vertebrae and analysis of an orphan nuclear receptor, germ cell nuclear factor (NR6A1) [J]. *Genome Res*, 2007, 17 (5): 586-593.
- [15] 唐娇, 刘益丽, 谢书琼, 等. 猪脊椎数性状候选基因研究进展 [J]. *中国畜牧杂志*, 2022, 58 (7): 92-98.
- [16] WADA Y, AKITA T, AWATA T, et al. Quantitative trait loci (QTL) analysis in a Meishan x Göttingen cross population [J]. *Anim Genet*, 2000, 31 (6): 376-384.
- [17] RISCH N, MERIKANGAS K. The future of genetic studies of complex human diseases [J]. *Science*, 1996, 273 (5281): 1516-1517.
- [18] JURJ M A, BUSE M, ZIMTA A A, et al. Critical analysis of genome-wide association studies: triple negative breast cancer quae exempli causa [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (16): 5835.
- [19] SATO S, UEMOTO Y, KIKUCHI T, et al. SNP- and haplotype-based genome-wide association studies for growth, carcass, and meat quality traits in a duroc multigenerational population [J]. *BMC Genet*, 2016, 17 (1): 1-17.
- [20] 张新浩. 德州驴生长性状遗传参数估计及候选基因挖掘 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2022.
- [21] GOODWIN S, MCPHERSON J D, MCCOMBIE W R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies [J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17 (6): 333-351.
- [22] LANDER E S, LINTON L M, BIRREN B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome [J]. *Nature*, 2001, 409 (6822): 860-921.
- [23] VENTER J C, ADAMS M D, MYERS E W, et al. The sequence of the human genome [J]. *Science*, 2001, 291 (5507): 1304-1351.
- [24] 李国治, 邓卫东. 基因组测序技术及其应用研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2018, 46 (22): 20-22.
- [25] HUANG J, ZHAO Y, BAI D, et al. Donkey genome and insight into the imprinting of fast karyotype evolution [J]. *Sci Rep*, 2015, 5 (17124): 2045-2322.
- [26] RENAUD G, PETERSEN B, SEGUIN O A, et al. Improved de novo genomic assembly for the domestic donkey [J]. *Sci Adv*, 2018, 4 (4): q392.
- [27] FRASER R S, LUMSDEN J S, LILLIE B N. Identification of polymorphisms in the bovine collagenous lectins and their association with infectious diseases in cattle [J]. *Immunogenetics*, 2018, 70: 533-546.
- [28] NICOD J, DAVIES R, CAI N, et al. Genome-wide association of multiple complex traits in outbred mice by ultra-low-coverage sequencing [J]. *Nat Genet*, 2016, 48: 912-918.
- [29] SUN Y, LI Y H, ZHAO C H, et al. Genome-wide association study for numbers of vertebrae in Dezhou donkey population reveals new candidate genes [J]. *J Integr Agr*, 2023, 22 (10): 3159-3169.
- [30] GEIMAN T M, MUEGGE K. DNA methylation in early development [J]. *Mol Reprod Dev*, 2010, 77 (2): 105-113.
- [31] CHATTERJEE A, ECCLES M R. DNA methylation and epigenomics: new technologies and emerging concepts [J]. *Genome Biol*, 2015, 16 (1): 103-108.
- [32] HUANG Y Z, SUN J J, ZHANG L Z, et al. Genome-wide DNA methylation profiles and their relationships with mRNA and the microRNA transcriptome in bovine muscle tissue (*Bos taurine*) [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 1-17.
- [33] CHEN S Q, LIU S L, SHI S L, et al. Cross-species comparative DNA methylation reveals novel insights into complex trait genetics among cattle, sheep, and goats [J]. *Mol Biol Evol*, 2024, 41 (2): msae003.
- [34] SANGWAN R S, TRIPATHI S, SINGH J, et al. De novo sequencing and assembly of centella asiatica leaf transcriptome for mapping of structural, functional and regulatory genes with special reference to secondary metabolism [J]. *Gene*, 2013, 525 (1): 58-76.
- [35] 孙洪计, 魏慧君. RNA-Seq 技术在转录组研究中的应用 [J]. *中外医学研究*, 2018, 16 (20): 184-187.
- [36] 赖振雨. 德州驴四个生长发育候选基因的多态及其与体尺性状的关联分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2024.
- [37] 许静, 姚欢丰, 程程杰, 等. 基于 RNA-seq 技术分析德州驴不

- 同部位肌肉的差异表达基因 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2023, 44 (5): 71-78.
- [38] 马程. 德州驴骨骼肌的全转录组学研究及基因鉴定 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2024.
- [39] WANG Y, MIAO X, ZHAO Z, et al. Transcriptome atlas of 16 donkey tissues [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 682734.
- [40] 于杰. 德州驴睾丸发育非编码 RNA 鉴定及单细胞转录图谱构建 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2024.
- [41] 李和刚, 杨峰, 张宝珣, 等. CRISPR/Cas9 技术研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2015, 51 (21): 92-97.
- [42] ADLI M. The CRISPR tool kit for genome editing and beyond [J]. *Nat Commun*, 2018, 9 (1): 1911.
- [43] CUI Y H, QU X J. CRISPR-Cas systems of lactic acid bacteria and applications in food science [J]. *Biotechnol Adv*, 2024, 71: 108323.
- [44] BHATIA S, POOJA, YADAV S K. CRISPR - Cas for genome editing: classification, mechanism, designing and applications [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 238: 124054.
- [45] MIKAWA S, HAYASHI T, NII M, et al. Two quantitative trait loci on *Sus scrofa* chromosomes 1 and 7 affecting the number of vertebrae [J]. *J Anim Sci*, 2005, 83 (10): 2247-2254.
- [46] 张慧. 解析 VRTN 基因因果突变调控猪胸椎数的分子机理 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2018.
- [47] DUAN Y, ZHANG H, ZHANG Z, et al. VRTN is required for the development of thoracic vertebrae in mammals [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14 (6): 667-681.
- [48] LEE J, ZHOU P. DCAFs, the missing link of the CUL4-DDB1 ubiquitin ligase [J]. *Molecular Cell*, 2007, 26 (6): 775-780.
- [49] YOUSEFELAHYEH M, XU J, ALVARADO E, et al. DCAF7/WDR68 is required for normal levels of DYRK1A and DYRK1B [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (11): e0207779.
- [50] WANG Y N, MIAO X Y, ZHAO Z C, et al. Transcriptome atlas of 16 donkey tissues [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 682734.
- [51] BHARAMBE H, JOSHI A, YOGI K, et al. Restoration of miR-193a expression is tumor-suppressive in MYC amplified Group 3 medulloblastoma [J]. *Acta Neuropathol Com*, 2020, 8 (1): 70.
- [52] SETOGUCHI K, WATANABE T, WEIKARD R, et al. The SNP c.1326T>G in the non - SMC condensin I complex, subunit G (NCAPG) gene encoding a p. Ile442Met variant is associated with an increase in body frame size at puberty in cattle [J]. *Anim Genet*, 2011, 42 (6): 650-655.
- [53] WIDMANN P, REVERTER A, WEIKARD R, et al. Systems biology analysis merging phenotype, metabolomic and genomic data identifies *NON SMC condensin I complex, subunit G (NCAPG)* and cellular maintenance processes as major contributors to genetic variability in bovine feed efficiency [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (4): e0124574.
- [54] 侯浩宾, 李海静, 杨莉, 等. 德州驴 NCAPG-DCAF16 基因区域多态性与生长性状的关联分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2019, 50 (2): 302-313.
- [55] KRUMLAUF R. Hox genes in vertebrate development [J]. *Cell*, 1994, 78: 191-201.
- [56] JUAN A H, RUDDLE F H. Enhancer timing of Hox gene expression; deletion of the endogenous *Hoxc8* early enhancer [J]. *Development*, 2003, 130 (20): 4823-4834.
- [57] WAN M, SHI X, FENG X, et al. Transcriptional mechanisms of bone morphogenetic protein-induced osteoprotegerin gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276 (13): 10119-10125.
- [58] VANDENA E, FROMENTAL R C, DE G W, et al. Axial skeletal patterning in mice lacking all paralogous group 8 Hox genes [J]. *Development*, 2001, 128 (10): 1911-1921.
- [59] WANG C F, LI H J, GUO Y, et al. Donkey genomes provide new insights into domestication and selection for coat color [J]. *Nat Commun*, 2020, 11 (1): 6014.
- [60] HIRATA J, NAKAGOSHI H, NABESHIMA Y I, et al. Asymmetric segregation of the homeodomain protein Prospero during *Drosophila* development [J]. *Nature*, 1995, 377 (6550): 627-630.
- [61] VAN DUYNENVOORDE, LUI J, KANT S, et al. Copy number variants in patients with short stature [J]. *Eur J Hum Genet*, 2013, 22 (5): 602-609.