

基于多组学鉴定奶牛生产性状关键基因及育种应用



□李旋亮

奶牛养殖在全球农业经济中占据重要地位,其生产性状直接关系到牛奶的产量和质量,进而影响乳业的经济效益和市场竞争。传统的奶牛育种主要依赖于表型选择和系谱信息,虽取得了一定的遗传进展,但随着对奶牛生产性能要求的不断提高,此方法逐渐显示出局限性。近年来,多组学技术的快速发展为深入解析奶牛生产性状的遗传机制提供了新的契机。通过整合基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多层面的生物信息,能够更精准地鉴定与生产性状紧密相关的关键基因,从而实现奶牛的高效精准育种,培育出具有更优生产性能的奶牛品种,满足市场对高品质乳制品的需求。

多组学技术在奶牛研究中的应用

1. 基因组学

基因组学旨在研究生物体的整个基因组序列和结构,以及基因的功能和相互作用。在奶牛研究中,全基因组测序技术已被广泛应用获取完整基因组信息,包括基因数量、位置、序列变异等方面。通过对不同奶牛品种或群体的基因组进行比较分析,结合全基因组关联分析(GWAS)等方法可以鉴定出与奶牛生产性状相关的单核苷酸多态性(SNP)位点和数量性状位点(QTL)。例如,多项GWAS研究发现DGATI1(二酰甘油酰基转移酶1)基因上的特定SNP位点与奶牛的乳脂率密切相关,该基因在脂肪代谢过程中发挥着关键作用,其突变可影响奶牛乳腺中甘油三酯的合成,进而改变乳脂含量。有一些研究利用千牛基因组计划中的数据,对大量的荷斯坦牛进行了全基因组关联分析,揭示了与产奶量、乳脂率和乳蛋白率相关的多个QTL(数量性状位点)区域。通过纵向研究发现130个与产奶性状相关的QTL区域,其中包含581个候选基因,部分基因已被报道与奶牛产奶性状有关。研究表明,X染色体上的遗传变异对奶牛的生产性状具有重要影响,若将X染色体上的标记纳入基因组预测,可以显著提高预测的可靠性。研究还指出X染色体上的基因与奶牛的产奶、繁殖、健康等性状具有关联,这一发现对奶牛的育种工作提供了新的视角和策略。通过基因组目标区域捕获技术和重测序,研究人员成功地鉴定了影响奶牛产奶性状的功能基因。这些基因在奶牛的泌乳、奶品质等方面发挥着关键作用。进一步的研究显示,一些基因如GPIHBP1(糖基磷脂酰肌醇锚定高密度脂蛋白结合蛋白1)和EEF1D(真核翻译延伸因子18)在乳腺组织呈现高表达,暗示其在产奶过程中具有重要作用。

2. 转录组学

转录组学主要研究细胞或组织在特定条件下转录出来的所有RNA(核糖核酸)转录本的集合,反映了基因的表达水平和调控模式。应用RNA测序(RNA-seq)技术,可对奶牛不同组织(如乳腺、肝脏、肌肉等)在不同生理阶段(如泌乳期、干奶期等)的转录组进行分析,鉴定出差异常表达基因(DEGs)。这些DEGs往往参与奶牛生产性状相关的生物学过程,如乳腺组织中与乳蛋白合成相关的基因在泌乳高峰期通常呈现高表达状态。RPL23A(核糖体蛋白L23a)和ACACB(乙酰辅酶A羧化酶 β)基因可以作为影响我国荷斯坦牛产奶性状的候选基因,

其基因位点影响奶牛的乳脂或乳蛋白性状,对产奶性状起到重要的调控作用。通过对转录组数据的深入挖掘,能够构建基因调控网络,揭示基因之间的协同作用,为进一步明确关键基因提供关键线索。

3. 蛋白质组学

蛋白质组学是一种基于质谱等多项技术聚焦于研究细胞、组织或生物体中全部蛋白质的表达、修饰、定位和相互作用的研究方法。在奶牛研究中,二维凝胶电泳(2-DE)和质谱技术(MS)是常用的蛋白质组学研究手段。通过分析奶牛乳汁、血液或组织中的蛋白质组成和变化,可发现与生产性状关联的关键蛋白。例如,牛奶中的主要蛋白质成分 β -乳球蛋白和 α -乳白蛋白,其表达量和翻译后修饰状态的变化与乳蛋白的品质和产量密切相关。一项研究利用蛋白质组学和转录组学的方法,通过分析中国荷斯坦牛的肝脏组织,鉴定了与乳脂性状相关的关键基因。其中一些基因的差异表达与乳脂的合成密切相关,这为改善牛奶品质提供了潜在的分子标记。另一项研究关注 κ -酪蛋白(κ -cn)和 β -乳球蛋白(β -lg)的变异对中国荷斯坦牛乳成分的影响,这些蛋白质的变异直接影响乳成分如蛋白质和干物质的含量,进而影响牛奶的凝乳能力。还有研究关注奶牛围产期的代谢变化,通过蛋白质组学分析奶牛在这一时期能量代谢和物质代谢的关键调控机制,有助于理解奶牛在这一关键时期的生理变化,为营养调节和健康管理提供了理论基础。此外,蛋白质组学还能揭示蛋白质与蛋白质之间的相互作用,有助于深入理解奶牛体内复杂的生物学过程和代谢通路,进一步明确关键基因的作用机制。

4. 代谢组学

代谢组学主要研究生物体内小分子代谢物的组成、浓度和变化规律,这些代谢物是生物体内各种化学反应的终产物或中间产物,能够反映细胞或机体的生理状态和代谢通量。在奶牛研究中,通过对血液、尿液、乳汁等生物样本进行代谢组学分析,可以检测到与奶牛生产性状相关的关键标志物。研究发现瘤胃微生物组和代谢物共同决定了奶牛的个体生产性能。乳汁中的脂肪酸组成及其含量是衡量乳脂品质的重要指标,其代谢变化与乳腺中脂肪酸代谢相关基因的表达密切相关。例如,高乳蛋白产量(MPY)的奶牛与低MPY的奶牛在瘤胃宏基因组、代谢组和血清代谢组上存在显著差异,这些差异主要体现在瘤胃中特定微生物的丰度变化和代谢途径的富集上。代谢组学研究发现,肝脏在围产期能量平衡时期会出现非酯化脂肪酸(NEFA)的过度摄取和酮体(如BHB)或甘油三酯(TG)的增加等代谢变化,这些都是围产期奶牛代谢疾病的风险因素。通过比较不同MPY奶牛的瘤胃代谢物,发现某些代谢物在高MPY奶牛中富集,如维生素B6代谢、甘油酯代谢和 β -丙氨酸代谢,这些代谢物的差异与奶牛的产奶量和乳蛋白含量密切相关。血液中某些氨基酸和代谢中间产物的浓度变化反映了奶牛的营养代谢状况和蛋白质合成能力,这些代谢物的变化可追溯到相关关键基因的功能差异,为寻找潜在的关键基因提供新的切入点。比如在围产期奶牛的血清代谢组(甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、烟酸和烟酰胺代谢等)也会发生变化,这些变化反映了奶牛在生理和代谢上的重要适应,对提高奶牛的

盈利能力具有重要意义。

基于多组学鉴定 奶牛生产性状关键基因的方法

1. 数据整合策略

多组学数据的收集与预处理:在基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等实验中收集原始数据,并对基因组数据进行质量控制、序列比对和SNP检测等预处理步骤,获得大量的基因型数据,对基因型数据与奶牛的表型数据(产奶量、乳脂率等)进行关联性分析,筛选出显著的SNPs(单核苷酸多态性);然后采集高产和低产奶牛的乳腺组织或其他相关组织样本,进行RNA提取和测序,通过对进行测序数据的过滤、与参考基因组比对以及基因表达定量分析,比较两组样本的基因表达差异,识别出差异常表达基因,并利用质谱技术(TMT技术)对奶牛乳腺组织或者其他相关组织的蛋白质鉴定和定量,比较不同生产性状奶牛的蛋白质表达差异,对代谢组数据则要进行峰提取、物质鉴定和浓度归一化处理等。确保各层面数据的准确性和可比性是后续整合分析的基础。

关联分析与网络构建:通过将不同组学数据中的关键信息进行关联分析,寻找基因——转录本——蛋白质——代谢物之间的潜在联系。例如,将GWAS鉴定到的QTL区域内的基因与转录组中的差异表达基因进行重叠分析,确定在特定组织和生理条件下可能发挥重要作用的候选基因,再结合蛋白质组和代谢组数据,构建基因调控网络和代谢通路网络。将关键基因置于复杂的生物学网络中,分析其上下游调控关系和在代谢通路中的位置,进一步筛选出与生产性状直接相关的核心基因。这种整合分析方法能够克服单一组学研究的局限性,更全面地理解奶牛生产性状的遗传调控机制。

2. 功能验证实验

细胞水平验证:利用奶牛原代细胞(如乳腺上皮细胞、肝细胞等)或细胞系,对通过多组学鉴定出的关键基因进行功能验证。通过基因转染、RNA干扰或基因编辑等技术手段,改变目标基因在细胞中的表达水平,然后检测细胞的生物学特性和代谢产物的变化。例如,在奶牛乳腺上皮细胞中通过表达与乳蛋白合成相关的关键基因,观察细胞内乳蛋白合成相关信号通路的激活情况以及乳蛋白的合成量和分泌水平是否增加;或者敲除与脂肪代谢相关的关键基因,检测细胞内脂肪酸合成和转运相关指标的变化,以此确定该基因在乳成分合成代谢过程中的具体功能和作用机制。通过RNA干扰技术在牛乳腺上皮细胞中对RPL8(核糖体蛋白L8)基因进行表达沉默,可以发现与乳脂代谢相关的多个基因表达量发生改变。

动物个体水平验证:在细胞水平验证的基础上可进一步开展动物体内验证。方法是通过构建转基因奶牛模型或利用基因编辑技术对奶牛胚胎进行基因修饰,使关键基因在动物体内发生特定的遗传改变,然后对这些奶牛的生产性状进行长期跟踪监测和分析。例如,将与高生长速率相关的关键基因导入奶牛基因组中,观察转基因奶牛从幼龄期到成年期的生长发育情况,包括体重、体尺、骨骼发育等指标的变化;或者对与乳品质相关的关键基因进行编辑,分析其对奶牛产奶量、乳蛋白率、乳脂率等生产性能的影响,从而在动物整体水平上明确关键基因的生物学功能和育种应用价值。研究人员通过基因编辑技术敲除GPIHBP1基因后,发现奶牛的产奶量下降了约30%,乳脂肪含量和乳糖含量也有所降低,这表明GPIHBP1基因对奶牛的产奶性状具有重要影响。研究人员还将候选基因导入奶牛基因组中,构建转基因奶牛模型,通过比较转基因奶牛与对照奶牛的生产性状差异,验证候选基因的功能;在牛乳腺上皮细胞中,通过RNA干扰技术沉默候选基因的表达,观察细胞内相关基因表达和功能的变化。例如,对RPL8基因进行RNA干扰后,发现与乳脂代谢相关的多个基因表达量发生了变化,从而间接推断RPL8基因在乳脂合成中的作用。还通过构建候选基因的过表达载体,转染牛乳腺上皮细胞,检测过表达后细胞内相关基因表达和功能的变化。例如,在牛原代乳腺上皮细胞

中瞬时转染GPIHBP1表达载体后,发现多种酪蛋白基因和乳脂合成相关基因的表达水平发生了变化,从而推断GPIHBP1基因在乳脂合成中的作用。

关键基因在奶牛育种中的应用

1. 标记辅助选择(MAS)

一旦鉴定出与奶牛生产性状紧密相关的关键基因或其紧密连锁的分子标记(如SNP标记),就可以将这些标记应用于标记辅助选择育种方案中。在奶牛群体中,通过检测这些标记的基因型,能够早期、准确地识别出具有优良生产性状基因型的个体,将其作为种用候选牛进行优先选择和培育,从而加快育种进程,提高选择效率。

2. 基因编辑技术

基因编辑技术为奶牛育种提供了更为精准的遗传改良手段。通过对奶牛基因组中的关键基因进行定点修饰,敲除有害突变基因、插入有益基因或对现有基因进行精确的碱基编辑,实现对奶牛生产性状和抗病能力的定向优化。例如,针对某些与奶牛疾病易感性相关的关键基因进行敲除,可增强奶牛的抗病能力;或者对与乳蛋白合成效率相关的基因进行优化编辑,可提高乳蛋白含量和质量以满足市场对高品质乳制品的需求。然而,基因编辑技术在奶牛育种中的应用仍面临一些技术和伦理方面的挑战,需要在严格的监管下进行深入研究和谨慎应用,确保其安全性和可持续性。

3. 全基因组选择(GS)

全基因组选择是一种基于基因组范围内的标记信息对奶牛个体的育种值进行预测的方法。通过整合多组学鉴定出的大量与生产性状相关的SNP标记以及表型数据,利用先进的BLUP(最佳线性无偏预测)方法的扩展模型构建全基因组选择模型,能够更准确地估计奶牛个体的基因组育种值(GEBV)。在奶牛育种实践中,根据GEBV对青年牛或后备牛进行早期选择,无需等待其表型性状完全表现出来,能够大大缩短世代间隔,加速遗传进展。同时,全基因组选择还能够考虑到基因之间的相互作用以及遗传背景的影响,提高选择的准确性和可靠性,使得育种计划更加高效和精准,有利于培育出综合生产性能优良的奶牛新品种。

挑战

基于多组学技术鉴定奶牛生产性状关键基因,并将其应用于奶牛育种实践,为奶牛遗传改良开辟了新的途径和方法。通过整合基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多组学数据,能够使研究人员更深入地了解奶牛生产性状的遗传调控机制,精准定位关键基因,为育种决策提供有力的科学依据。在育种应用方面,标记辅助选择、基因编辑技术和全基因组选择等方法各有其优势和适用范围,将这些技术合理组合应用,有望实现奶牛生产性能的快速提升和品种的优化升级。然而,目前多组学技术在奶牛育种中的应用仍处于发展阶段,还面临着一些挑战和问题。多组学数据的整合分析方法还需要进一步优化和完善,以提高关键基因鉴定的准确性和可靠性;功能验证实验的成本较高、周期较长,限制了大规模关键基因功能研究的开展;基因编辑技术的安全性和伦理问题仍需专家学者深入探讨和解决;在复杂性状和多基因相互作用选择模型的预测准确性上还有待进一步提高。

展望

随着多组学技术的不断发展和创新,以及生物信息学、计算生物学等相关学科的交叉融合,研究人员有望开发出更加高效、精准的关键基因鉴定方法和育种技术。同时,加强国际间的合作与交流,共享多组学数据和育种资源,将有助于推动全球奶牛育种事业的共同发展。此外,在奶牛育种过程中,还应充分考虑动物福利、环境保护等因素,以实现奶牛产业的可持续发展,为人类提供更加优质、安全、丰富的乳制品。

(作者单位:辽宁省盘锦市双台子区动物疫病预防控制中心)

专家谈养殖



奶牛正常分娩和产后的健康管理技术

1. 正常分娩

正常分娩只应满足的要求:奶牛自然分娩,顺产无产伤;胎衣在产后12小时内排出;产后排恶露会在15天左右完成;子宫复旧在产后的20—30天内基本恢复;卵巢活动在35—40天内完成,部分奶牛会出现1次明显发情表现;产后55天左右恢复正常繁殖力,出现发情表现,会参与产后第1次配种,且产后70天内表现出较理想的首配受胎率。

2. 助产

产接评分是牧场必备,需记录准确,方便后续查找各种疾病的发病原因。助产器助产在3%以内,属正常范围;助产比例高于10%是疾病显现的开始,产后各种疾病比例都会增加。鼓励自然分娩的牧场,如助产率高于10%,考虑和犊牛的产生体重大有很大关系,如出生犊牛体重43千克以上的比例在20%以上,说明围产前期犊牛生长过大,要在围产前期即产前21天找寻饲养问题,需从围产期饲养管理找原因。

3. 产房环境管理

产房环境管理直接影响产接节奏,是产接进程的重要因素。如产房舒适度影响产接过程,会给正常生产的牛只带来很大的死胎及弱胎风险。

4. 钙制剂灌服

血钙浓度直接关系奶牛子宫平滑肌收缩,血钙浓度偏低会导致胎衣不下、恶露排不干净等,引起子宫炎。灌服工作须做

好,如发生产后酮病或产后瘫痪,会增加日常子宫保健工作难度,影响子宫恢复速度。

5. 顺产牛只生殖系统保健方案

产后第一时间注射缩宫素。可选择长效卡贝缩宫素,增加子宫收缩频率和增加子宫张力,净化子宫;产后7天内观察恶露情况。结合体温监测情况,重点关注发情牛只;7天后直肠检查子宫,并再次注射长效缩宫素。刺激子宫排恶露,进一步判定子宫恢复情况。注射长效缩宫素目的是促进子宫收缩,排出子宫内炎性分泌物;产后15—21天肌注前列腺素,进行子宫保健,促进子宫净化;产后30天左右检查子宫复旧和卵巢机能情况,孕角的恢复、子宫质感、卵巢疾病等。

6. 产后7天内每天监测体温,观察恶露排出情况

奶牛发病的第1个信号通常是体温升高,然后才是可见的症状,如产奶量下降、采食量降低。产后7天测量体温有助于管理者及早发现奶牛病情。通常子宫炎、子宫积液、乳房炎和蹄病都会引起奶牛体温升高,但多数为子宫炎症引起。新产牛还应每天观察精神状态、子宫排出物等。产后3天左右发热牛的比例最高,是机体对抗炎症最激烈的阶段。如机体抵抗力不够,会导致病情加重,这体现体温监控对早期发现子宫炎的重大意义。

(付畅)

冬季刚出生的犊牛管理注意事项

冬季气候寒冷,刚出生的犊牛体质较弱,一定要注意加强饲养管理,做好相关护理,让犊牛健康过冬。

防寒保暖

犊牛舍最适宜生长温度为15℃—20℃,湿度为60%左右,而冬季气温普遍较低,大部分地区气温在10℃以下,所以要提前做好防风 and 防寒措施。

要对圈舍内的一些缝隙做好密封,以免贼风侵入,同时可以放置取暖设备,垫料也要厚实干燥,一旦垫料出现潮湿,这时就需要及时更换。

另外取暖固然重要,但是通风也不能忽视,可以在天气晴朗时,适当地进行通风换气。

断脐带

在犊牛出生后,接产人员应该及时处理脐带。一般情况下犊牛的脐带会自然扯断,在未扯断时,用消毒后的剪刀在距腹部6—8厘米处剪断脐带,用碘酒进行消毒。断脐不需要包扎,可以系一个小扣,让其自然脱落为好。犊牛身上的黏液最好让母牛舔舐干净,这样能增进母牛和小牛的感情。但是对于口腔和鼻腔内的黏液,应该及时用毛巾清除,同时剥去犊牛犄蹄,助其站立。

尽早吃初乳

在犊牛出生后,尽量让其在半小时内吃到初乳,这是因为初乳中含有较多的母源抗体,可以增强犊牛对疾病的抵抗力。而对于体质较弱的犊牛则需要人工哺乳,直至其能自主进食。

加强管理

在犊牛出生后应该保持圈

舍的清洁卫生,要经常打扫牛舍,定期消毒,勤打扫、勤观察、勤换垫,做到牛舍干燥清洁。在进行冲洗时,严禁用冷水,要用温水。

把好疫病防控关

吃上初乳的犊牛,体内抗体水平一般较高,不易生病,但是冬季由于气温、湿度等环境影响,容易造成犊牛感冒和腹泻(胃肠炎)两种常见疾病的发生。

感冒的防治:如发现犊牛出现体温升高、流清鼻涕,耳鼻发凉、毛竖立、浑身发抖、口流黏液、舌面发白、呼吸加快等症状,这是典型的感冒症状。治疗可以用以下方法:防风60克、荆芥50克、薄荷50克、紫苏50克、生石膏40克、生姜50克、大葱100克,水煎服,每天1剂,连用3天;青霉素200万单位,百尔定40毫升,肌肉注射,每天1次,连用3天。

腹泻的防治:如发现腹泻,要清理胃肠道,保护胃肠黏膜,抗菌消炎处理。初期可以用郁金30克、银花36克、诃子28克、黄连18克、白芍18克、黄芩15克、黄柏15克、乌梅15克、石榴皮15克,水煎服温灌服。如果效果不明显,则应用抗菌药物。

肌肉注射百病消,每10公斤体重1毫升,每天2次,连用3天;或肌肉注射腹泻停,每公斤体重0.3毫升,每天2次,连用3天;口服畜宁宁或磺胺胍30克,TMP(抗菌增效剂)6克,碳酸氢钠30克,加水适量,一次内服,每天2次,连用3天。

(新锋)