

Fish Genomics and
Genome Breeding Technologies

鱼类基因组学及 基因组育种技术

陈松林 主编



科学出版社

鱼类基因组学及基因组育种技术

Fish Genomics and Genome Breeding Technologies

陈松林 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书首次系统介绍了我国科学家近几年在几种重要养殖鱼类全基因组精细图谱绘制、重要性状相关功能基因筛选及其分子机制研究、基因组编辑和全基因组选择育种技术等方面取得的最新成果和进展。主要内容包括半滑舌鳎、鲤、草鱼、大黄鱼、菊黄东方鲀、牙鲆、金线鲃、鲢鱼、大菱鲆和龙鱼的全基因组测序和精细图谱绘制, 鱼类性别决定和抗病免疫相关基因的克隆与鉴定, 鱼类低温适应的分子机制和变态的分子基础, 淡水和海水养殖鱼类基因组编辑技术的建立与应用, 鱼类全基因组选择育种技术的建立与应用, 鱼类基因组及其育种技术的发展战略与建议。本书既有处于国际领先水平的鱼类结构基因组和重要性状形成的分子机制等理论研究内容, 又有鱼类基因组编辑和全基因组选择等前沿分子育种技术内容。

本书适合高等院校水产相关专业师生, 以及相关科研院所的科技人员和水产企业的技术人员阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

鱼类基因组学及基因组育种技术/陈松林主编. —北京: 科学出版社, 2017.5

ISBN 978-7-03-051829-3

I. ①鱼… II. ①陈… III. ①鱼类-基因组 ②鱼类-基因组-育种
IV. ①Q959.403 ②S962

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 033072 号

责任编辑: 王海光 闫小敏 / 责任校对: 李 影

责任印制: 肖 兴 / 封面设计: 北京图阅盛世文化传媒有限公司

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017年5月第一版 开本: 787×1092 1/16

2017年5月第一次印刷 印张: 39

字数: 900 000

定价: 380.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

主 编 简 介



陈松林，男，1960年10月生于湖北黄陂。博士，研究员，博士生导师。现任中国水产科学研究院黄海水产研究所二级研究员，水产生物技术与基因组研究室主任，青岛海洋科学与技术国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室副主任。兼任中国水产科学研究院水产生物技术领域首席科学家，中国水产学会常务理事，水产生物技术专业委员会主任委员，中国农业生物技术学会常务理事，山东省泰山学者攀登计划专家，国际重要刊物 *Scientific Reports* 和 *Marine Biotechnology* 等编委。长期从事鱼类种质冷冻保存、细胞培养、性别控制、基因组学和分子育种等水产种质资源和遗传育种领域的研究工作。主持国家863计划课题、国家973计划课题、国家自然科学基金重点项目和公益性行业（农业）科研专项等项目近40项。获国家技术发明奖二等奖2项（第一名），获国家科技进步奖二等奖1项（第二名），获省部级科技进步奖一等奖和二等奖共7项。发表学术论文380余篇，其中SCI论文160多篇，包括 *Nature Genetics* 论文2篇，*Genome Research* 论文1篇。获授权国家发明专利38项，主编专著4部。1992年获第三届中国青年科技奖，1993年享受国务院政府特殊津贴，1997年被授予农业部有突出贡献中青年专家，1997年入选国家百万人才工程第一、二层次人选，2004年获“青岛市专业技术拔尖人才”称号，并入选青岛市首批科技将才计划，2005年获“山东省有突出贡献中青年专家”称号，2007年被遴选为山东省泰山学者特聘专家，2007年获山东省先进工作者，2012年获第四届中华农业英才奖和“第五届全国优秀科技工作者”荣誉称号，2014年获“科学中国人”（2013年度）称号，2014年晋升为泰山学者攀登计划专家，2015年获青岛市拔尖人才称号。

编委名单

(以姓氏笔画为序)

- 王德寿: 1964年生, 博士, 西南大学生命科学学院院长、教授。主要从事罗非鱼基因组编辑与性别控制等研究。
- 石 琼: 1970年生, 博士, 深圳市华大海洋研究院院长、深圳华大水产科技有限公司副总经理兼首席科学家。主要从事水产基因组学研究、鱼类分子育种和海洋药物研发。
- 孙效文: 1955年生, 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所研究员。主要从事鲤基因组及分子育种研究。
- 汪亚平: 1963年生, 博士, 中国科学院水生生物研究所研究员。主要从事草鱼基因组及分子育种研究。
- 宋林生: 1966年生, 博士, 大连海洋大学副校长、教授, 国家杰出青年基金获得者。主要从事海洋动物分子免疫学和菊黄东方鲀基因组研究。
- 陈良标: 1966年生, 博士, 上海海洋大学教授, 国家杰出青年基金获得者。主要从事鱼类基因组生物信息学及抗寒分子机制研究。
- 陈新华: 1968年生, 博士, 国家海洋局第三海洋研究所研究员, 国家杰出青年基金获得者。主要从事大黄鱼基因组及分子免疫学研究。
- 邵长伟: 1982年生, 博士, 中国水产科学研究院黄海水产研究所副研究员。主要从事海水鲆鲽鱼类基因组与表观遗传学研究。
- 徐 鹏: 1977年生, 博士, 厦门大学教授, 国家优秀青年基金获得者。主要从事鲤基因组及遗传多样性研究。
- 徐田军: 1982年生, 博士, 浙江海洋大学教授。主要从事鱼类分子免疫学及鳊鱼基因组研究。
- 鲍宝龙: 1970年生, 博士, 上海海洋大学教授。主要从事比目鱼类变态发育生物学研究。

序 一

基因资源是战略性资源，谁占有了基因资源，谁就抢占了发展的先机。全基因组测序是发掘基因资源的关键。因此，国外于 20 世纪末开展了鱼类全基因组解析的研究，迄今国外已完成了红鳍东方鲀、大西洋鳕、金枪鱼、罗非鱼、虹鳟、大西洋鲑和沟鲈等 10 多种重要经济鱼类的全基因组测序和精细图谱绘制，论文相继在 *Science*、*Nature* 和 *Nature Communications* 等杂志上发表。鱼类基因组资源发掘及其应用研究已成为国际水产领域的前沿热点研究方向。

自 2010 年以来，陈松林研究员相继主持承担了国家“十二五”863 计划课题“海水鲆鲽类功能基因开发与应用”和国家自然科学基金重点项目“半滑舌鳎性别决定基因筛选和功能分析及性别决定机制研究”等项目，在国内外率先完成了半滑舌鳎和牙鲆全基因组解析的研究，揭示了半滑舌鳎性染色体进化和性别调控的分子机制，阐明了鲆鲽鱼类变态发育的分子机制，2 篇论文相继在 *Nature Genetics* 上发表。同时，国内其他相关单位也分别完成了鲤、草鱼、大黄鱼、石斑鱼、菊黄东方鲀、金线鲃、鲩鱼和龙鱼等养殖鱼类全基因组解析的研究，其中大多数鱼类全基因组解析的论文相继在 *Nature Genetics*、*Nature Communications* 等国际重要刊物上发表。上述成果提升了我国鱼类基因组研究在国际上的竞争力和影响力，使我国在鱼类基因组研究方面进入国际先进行列，在个别方向达到国际领先水平，促进我国的鱼类养殖业进入基因组时代。

该书主要以我国科学家近几年来完成的 10 种养殖鱼类全基因组解析及性别决定、抗病免疫相关基因发掘和低温适应分子机制、变态分子基础的研究成果为基础编写而成，同时介绍了我国学者在养殖鱼类基因组编辑和全基因组选择育种这些前沿技术研究上取得的重要进展。另外，也介绍了国外相关方面的一些最新研究进展。该书是我国水产生物基因组学和基因组育种技术的第一部专著，选题前沿、内容翔实、图文并茂、学术性强、实用面广，既具有重大的学术价值，又具有广阔的应用前景。适合各类科技人员及研究生、本科生等阅读，亦可作为大专院校分子生物学、水产基因组学、水生生物学、水产生物技术、水产遗传育种和水产养殖等专业的教材和参考书。相信该书的出版必将对我国水产基因组研究及现代水产种业的发展起到推动作用。

林浩铨

中国工程院院士 中山大学教授

2017 年 1 月 8 日

序 二

鱼类是我国动物食品的重要组成部分，也是我国水产养殖业的主要种类，2015年我国鱼类养殖总产量为2846万t，占全国水产养殖总产量的58%。优良品种是鱼类种业可持续发展的基础和核心要素。尽管过去20多年我国在鱼类良种培育上取得了重要进展，培育出一批高产新品种，但就目前来说，我国鱼类种业的发展仍面临一些问题和严峻挑战，如对优异种质资源鉴定的深度和广度不够，鱼类育种周期长，种质退化严重，具有重要育种价值的基因和分子标记很少，对重要性状的遗传解析不够，全基因组选择育种等新技术较少应用，基因组编辑和分子设计等育种新技术亟待建立，具有高产、抗病、抗逆等多个优良性状的重大新品种还十分缺少。导致这些问题难以解决的原因之一就是缺少鱼类基因组资源和分子育种技术。因此，鱼类全基因组解析和基因组育种成为国内外近年的前沿研究热点。国外迄今已完成了罗非鱼、虹鳟、大西洋鲑和沟鲶等重要养殖鱼类的全基因组解析，发掘了海量基因资源，为这些鱼类的遗传改良提供了充足的基因资源。

国内在鱼类全基因组解析上尽管起步较晚，但近几年奋起直追，也取得了重要进展。自中国水产科学研究院黄海水产研究所陈松林研究员领衔完成了我国第一种鱼类——半滑舌鳎的全基因组精细图谱绘制以来，我国科技工作者又相继完成了鲤、草鱼、大黄鱼、菊黄东方鲀、金线鲃、鲩鱼、龙鱼和牙鲆等养殖鱼类全基因组解析的研究，其中部分鱼类全基因组解析结果发表在*Nature Genetics*等国际重要刊物上。这些鱼类基因组计划的完成使我国鱼类基因组研究进入国际先进行列，在某些方向达到国际领先水平，同时，标志着我国鱼类基础研究和遗传改良进入了基因组时代。

在上述研究成果的基础上，陈松林研究员领衔编写了该书，系统介绍了我国科学家近几年完成的10种养殖鱼类全基因组解析的研究成果，以及鱼类性别决定、抗病免疫相关基因发掘和低温适应分子机制、变态发育分子基础的研究进展，同时介绍了我国学者在养殖鱼类基因组编辑和基因组选择育种技术建立与应用上取得的最新成果。该书是我国关于水产生物全基因组解析和基因组育种技术的第一部专著，既具有重要的学术价值，又具有重大应用价值。适合各类科技人员及研究生、本科生等阅读，亦可作为大专院校水产基因组学、水生生物学、水产遗传育种、分子生物学和水产养殖等专业的教材。该书的出版必将对鱼类遗传育种产生重大而深远的影响，特此向读者推荐。



中国科学院院士 中国科学院水生生物研究所研究员

2017年1月6日

前 言

我国是水产养殖大国，水产养殖产量占全世界水产养殖总产量的 70% 左右。其中，鱼类养殖业又是水产养殖业的主导产业。据统计，2015 年我国鱼类养殖产量为 2846 万 t，占水产养殖总产量的 58%。尽管我国 20 多年来，采用传统的杂交、群体选育、家系选育及细胞工程技术先后培育了 60 多个鱼类新品种，但这些新品种主要是针对生长性状进行选育获得的，而对抗病、抗逆和品质等数量性状很少进行遗传选育，导致我国缺少具有高产、抗病、抗逆、优质等多个优良性状的鱼类良种，所以，养殖鱼类的病害问题迟迟难以解决。究其原因，主要是我国以前缺乏鱼类基因组资源，缺少培育抗病、高产、优质良种的分子育种技术。因此，开展我国重要养殖鱼类全基因组解析研究，发掘具有育种价值的功能基因和分子标记，建立现代分子育种技术成为亟待攻克的重大课题。

国外在鱼类全基因组解析和基因组资源发掘上起步较早，2002 年新加坡科学家领衔率先发表了红鳍东方鲀全基因组测序的结果，随后，几个发达国家的科学家相继完成了大西洋鳕、金枪鱼、罗非鱼、虹鳟、大西洋鲑和沟鲶等 10 多种经济鱼类的全基因组测序和精细图谱绘制。而我国鱼类全基因组测序于 2009 年才启动，尽管起步较晚，但近 5 年也取得了突破性进展。自 2009 年以来，本人带领的研究团队主持承担了公益性行业（农业）科研专项、国家“十二五”973 计划课题“鱼类抗病性状的遗传基础及分子设计育种的基础研究”、863 计划课题“海水鲆鲽类功能基因开发与应用”和“基于基因组信息的鱼类（半滑舌鳎）遗传选育”，以及国家自然科学基金重点项目“半滑舌鳎性别决定基因筛选和功能分析及性别决定机制研究”等课题任务，在国内外率先完成了半滑舌鳎全基因组解析，揭示了半滑舌鳎性染色体进化和性别调控的分子机制，自本实验室于 2014 年 2 月在 *Nature Genetics* 上发表了半滑舌鳎全基因组解析的论文以来，我国科学家又相继完成了鲤、草鱼、大黄鱼、菊黄东方鲀、鲢鱼、金线鲃、龙鱼和牙鲆等养殖鱼类的全基因组解析和精细图谱构建。其中，关于鲤、草鱼和牙鲆基因组研究的论文相继在 *Nature Genetics* 上发表。在完成上述鱼类全基因组解析后，如何应用基因组资源进行鱼类遗传改良、培育新品种又成为国内外的前沿研究热点。国内科学家在基因组育种技术上抢抓机遇，适时开展了淡水和海水养殖鱼类基因组编辑和全基因组选择育种技术研究，分别建立了罗非鱼等淡水养殖鱼类和半滑舌鳎等海水养殖鱼类基因组编辑技术，同时建立了鲆鲽鱼类全基因组选择育种技术，并应用该技术培育出抗病、高产牙鲆新品种——‘鲆优 2 号’。

基于国内科学家的研究成果，结合国际上的相关进展，本人联合国内发表了养殖鱼类全基因组解析论文的专家学者，以及从事鱼类抗寒和变态发育分子机制及基因组编辑研究的相关专家学者编写了本书。全书共分 19 章，各章题目与编写人员如下：第一章为鱼类基因组及重要性状相关功能基因研究进展概述，由陈松林、高进、刘洋、王文文、邵长伟编写；第二章为半滑舌鳎基因组，由陈松林、周茜、邵长伟编写；第三章为鲤基

因组,由徐鹏、彭文竹、郑先虎、陈葆华、江炎亮、许建、邵如玉、陈琳、孙效文编写;第四章为草鱼基因组,由汪亚平、陆颖、何利波编写;第五章为大黄鱼基因组,由陈新华、母尹楠、敖敬群、李佳、范丁丁、游欣欣编写;第六章为菊黄东方鲀基因组,由高强、高扬、宋林生编写;第七章为牙鲆基因组,由邵长伟、陈松林、鲍宝龙编写;第八章为金线鲃基因组,由张凯、将万胜、杨君兴、邱樱、石琼编写;第九章为鲑鱼基因组,由徐田军、许国良编写;第十章为大菱鲆基因组,由陈松林、邵长伟、王倩、徐浩、郭华编写;第十一章为龙鱼基因组,由李佳、卞超、邱樱、于辉、游欣欣、牟希东、胡隐昌、石琼编写;第十二章为鱼类性别决定基因各论,由陈松林、王倩、李海龙、孟亮、崔忠凯编写;第十三章为鱼类抗病免疫相关基因各论,由陈松林、王娜、王磊、修云吉、王林娜、李希红编写;第十四章为鱼类低温适应的分子机制,由陈良标、胡瑞芹、许强华、胡鹏编写;第十五章为比目鱼类变态的分子基础,由鲍宝龙编写;第十六章为淡水养殖鱼类基因组编辑技术的建立与应用,由王德寿、李明辉编写;第十七章为海水养殖鱼类基因组编辑技术的建立与应用,由陈松林、崔忠凯、莫苏东、刘云、王倩编写;第十八章为鲆鲽鱼类全基因组选择育种技术的建立与应用,由陈松林、刘洋、刘峰编写;第十九章为鱼类基因组及其育种技术的发展战略与建议,由陈松林编写。附录由周茜、王磊、王倩和修云吉编写。上述作者的名字均署在每章的结尾处。另外,中国水产科学研究院黄海水产研究所胡梦珠、张永珍和位战飞等研究生参与了第一章中相关资料的收集与整理。在此对大家的辛勤工作表示衷心的感谢。

本书是我国水产生物基因组学及基因组育种技术的第一部专著,是我国科学家在鱼类全基因组解析、功能基因组及基因组育种技术方面研究成果的系统总结,具有很强的前沿性、学术性和实用性。本书对其他水产养殖动物的基因组和分子育种研究也具有重要的借鉴价值。本书适合各类科技人员及研究生、本科生等阅读,亦可作为大专院校水产基因组学、水生生物学、水产生物技术、水产遗传育种和水产养殖等专业的教材。希望本书的出版对我国水产基因组研究及现代水产种业的发展起到一定的推动作用。

由于笔者水平有限,书中难免存在不足之处,敬请读者批评指正。

陈松林

2017年1月5日

目 录

| | |
|-----------------------------|-----|
| 第一章 鱼类基因组及重要性状相关功能基因研究进展概述 | 1 |
| 第一节 引言 | 1 |
| 第二节 全基因组测序技术发展概述 | 1 |
| 第三节 鱼类高密度遗传连锁图谱构建研究进展概述 | 3 |
| 第四节 鱼类物理图谱构建研究进展概述 | 4 |
| 第五节 鱼类全基因组测序与精细图谱绘制研究进展概述 | 6 |
| 第六节 鱼类基因组的特征 | 8 |
| 第七节 鱼类基因组进化 | 9 |
| 第八节 鱼类重要性状相关功能基因筛选与克隆研究进展概述 | 16 |
| 参考文献 | 25 |
| 第二章 半滑舌鳎基因组 | 36 |
| 第一节 引言 | 36 |
| 第二节 半滑舌鳎高密度遗传连锁图谱 | 37 |
| 第三节 半滑舌鳎 BAC 文库与物理图谱 | 42 |
| 第四节 半滑舌鳎全基因组测序与精细图谱构建 | 43 |
| 第五节 半滑舌鳎功能基因注释与基因家族 | 48 |
| 第六节 半滑舌鳎基因组与性染色体进化 | 51 |
| 第七节 半滑舌鳎转录组分析 | 56 |
| 第八节 半滑舌鳎生殖和生长相关基因的克隆与功能分析 | 60 |
| 第九节 半滑舌鳎性逆转的表观遗传学调控机制 | 65 |
| 参考文献 | 72 |
| 第三章 鲤基因组 | 78 |
| 第一节 引言 | 78 |
| 第二节 鲤遗传连锁图谱 | 79 |
| 第三节 鲤 BAC 文库构建与物理图谱 | 82 |
| 第四节 鲤全基因组组装与注释 | 95 |
| 第五节 鲤基因组进化 | 98 |
| 第六节 鲤遗传多样性分析 | 100 |
| 第七节 鲤 SNP 分型工具开发 | 102 |
| 第八节 重要经济性状、数量性状位点研究 | 104 |

| | |
|------------------------|------------|
| 第九节 鲤性状解析及基因功能研究 | 106 |
| 第十节 总结和展望 | 110 |
| 参考文献 | 111 |
| 第四章 草鱼基因组 | 118 |
| 第一节 引言 | 118 |
| 第二节 草鱼高密度遗传连锁图谱 | 119 |
| 第三节 草鱼 BAC 文库构建 | 132 |
| 第四节 草鱼基因组组装 | 135 |
| 第五节 草鱼基因组注释和基因进化 | 142 |
| 第六节 草鱼食性转变机制研究 | 153 |
| 参考文献 | 158 |
| 第五章 大黄鱼基因组 | 164 |
| 第一节 引言 | 164 |
| 第二节 大黄鱼 BAC 文库构建与物理图谱 | 165 |
| 第三节 大黄鱼全基因组组装与精细图谱 | 167 |
| 第四节 大黄鱼基因功能注释与基因家族 | 170 |
| 第五节 大黄鱼基因组进化分析 | 171 |
| 第六节 大黄鱼免疫性状的基因组特征 | 178 |
| 第七节 大黄鱼对环境胁迫的适应性机制研究 | 181 |
| 第八节 大黄鱼高密度遗传连锁图谱和染色体图谱 | 191 |
| 参考文献 | 196 |
| 第六章 菊黄东方鲀基因组 | 198 |
| 第一节 引言 | 198 |
| 第二节 菊黄东方鲀全基因组测序与组装 | 202 |
| 第三节 菊黄东方鲀基因组结构特征 | 206 |
| 第四节 菊黄东方鲀功能基因注释与基因家族 | 211 |
| 第五节 菊黄东方鲀基因组进化 | 216 |
| 参考文献 | 218 |
| 第七章 牙鲆基因组 | 222 |
| 第一节 引言 | 222 |
| 第二节 牙鲆高密度遗传连锁图谱 | 223 |
| 第三节 牙鲆 BAC 文库构建及其应用 | 228 |
| 第四节 牙鲆全基因组测序与精细图谱绘制 | 231 |
| 第五节 牙鲆基因组结构和功能注释 | 234 |
| 第六节 牙鲆基因家族及其进化 | 238 |
| 第七节 牙鲆体色不对称的分子机制 | 241 |

| | |
|--|------------|
| 参考文献 | 246 |
| 第八章 金线鲃基因组 | 250 |
| 第一节 引言 | 250 |
| 第二节 金线鲃全基因组测序与组装 | 251 |
| 第三节 金线鲃基因组特征与进化 | 256 |
| 第四节 金线鲃比较基因组学研究与转录组分析 | 258 |
| 第五节 总结与展望 | 262 |
| 参考文献 | 263 |
| 第九章 鲩鱼基因组 | 266 |
| 第一节 引言 | 266 |
| 第二节 鲩鱼全长 cDNA 文库和转录组文库测序 | 267 |
| 第三节 鲩鱼全基因组测序与组装 | 270 |
| 第四节 鲩鱼基因组特征与注释 | 276 |
| 第五节 鲩鱼系统发生与基因组进化 | 285 |
| 第六节 鲩鱼免疫系统特征 | 291 |
| 第七节 鲩鱼对生境的感官适应 | 296 |
| 参考文献 | 309 |
| 第十章 大菱鲆基因组 | 315 |
| 第一节 引言 | 315 |
| 第二节 大菱鲆分子标记开发与高密度遗传连锁图谱构建 | 316 |
| 第三节 大菱鲆性别相关分子标记的筛选与鉴定 | 318 |
| 第四节 大菱鲆 cDNA 文库构建与功能基因发掘概述 | 320 |
| 第五节 大菱鲆 BAC 文库构建与染色体 FISH 定位 | 322 |
| 第六节 大菱鲆全基因组测序及精细图谱绘制与分析 | 325 |
| 参考文献 | 330 |
| 第十一章 龙鱼基因组 | 334 |
| 第一节 引言 | 334 |
| 第二节 金龙鱼高密度遗传连锁图谱构建 | 335 |
| 第三节 龙鱼全基因组测序与组装 | 339 |
| 第四节 龙鱼基因组特征与进化 | 345 |
| 第五节 龙鱼转录组分析 | 348 |
| 第六节 金龙鱼性别决定及候选调控基因 <i>dmrt3a</i> | 350 |
| 第七节 总结与展望 | 351 |
| 参考文献 | 353 |
| 第十二章 鱼类性别决定基因各论 | 356 |
| 第一节 引言 | 356 |

| | | |
|-------------|-------------------------------------|------------|
| 第二节 | 半滑舌鳎雄性决定基因 <i>dmrt1</i> | 357 |
| 第三节 | 罗非鱼雄性决定基因 <i>amhy/amhr II</i> | 363 |
| 第四节 | 青鳞雄性决定基因 <i>DMY</i> | 369 |
| 第五节 | 青鳞雄性决定基因 <i>gsdf</i> | 374 |
| 第六节 | 虹鳟雄性决定基因 <i>sdv</i> | 381 |
| 第七节 | 红鳍东方鲀性别决定基因 <i>amhr2</i> | 384 |
| 第八节 | 银汉鱼雄性决定基因 <i>amhy</i> | 388 |
| | 参考文献 | 391 |
| 第十三章 | 鱼类抗病免疫相关基因各论 | 396 |
| 第一节 | 引言 | 396 |
| 第二节 | 鱼类抗菌肽基因 | 396 |
| 第三节 | 鱼类主要组织相容性复合体 (MHC) 基因 | 403 |
| 第四节 | 鱼类天然抗性相关巨噬蛋白 (Nramp) 基因 | 410 |
| 第五节 | 鱼类趋化因子基因 | 414 |
| 第六节 | 鱼类溶菌酶基因 | 424 |
| 第七节 | 鱼类自然杀伤细胞增强因子 (NKEF) 基因 | 429 |
| 第八节 | 鱼类 STAT3 和 STAT2 基因 | 433 |
| 第九节 | 鱼类 GRIM19 基因 | 439 |
| 第十节 | 鱼类 Akirin 基因 | 446 |
| | 参考文献 | 451 |
| 第十四章 | 鱼类低温适应的分子机制 | 461 |
| 第一节 | 引言 | 461 |
| 第二节 | 极地低温适应鱼类基因组和转录组的特征 | 461 |
| 第三节 | 鱼类低温响应的基因调控网络 | 466 |
| 第四节 | 鱼类抗冻蛋白基因的起源及其对低温适应功能的再认识 | 470 |
| 第五节 | 极端低温环境下鱼类基因丢失与血液发生系统的分子进化 | 471 |
| | 参考文献 | 473 |
| 第十五章 | 比目鱼类变态的分子基础 | 476 |
| 第一节 | 引言 | 476 |
| 第二节 | 调控牙鲆眼睛移动的分子基础 | 481 |
| 第三节 | 调控牙鲆额骨变形的分子基础 | 490 |
| 第四节 | 调控牙鲆背鳍冠状幼鳍发生的分子基础 | 499 |
| 第五节 | 变态过程中甲状腺激素调控比目鱼类体型变化 | 504 |
| | 参考文献 | 512 |
| 第十六章 | 淡水养殖鱼类基因组编辑技术的建立与应用 | 518 |
| 第一节 | 引言 | 518 |

| | | |
|-------------|------------------------------|------------|
| 第二节 | 基因组编辑原理 | 519 |
| 第三节 | 淡水养殖鱼类基因组编辑 | 525 |
| 第四节 | 基因组编辑技术在罗非鱼性别控制中的应用 | 530 |
| 第五节 | 基因组编辑技术在鱼类遗传改良和育种中的应用前景 | 538 |
| | 参考文献 | 540 |
| 第十七章 | 海水养殖鱼类基因组编辑技术的建立与应用 | 545 |
| 第一节 | 引言 | 545 |
| 第二节 | 海洋模式动物基因组编辑技术研究进展概述 | 546 |
| 第三节 | 海水鲆鲽鱼类胚胎显微注射技术的建立 | 546 |
| 第四节 | 海水鲆鲽鱼类基因组编辑技术的建立与应用 | 549 |
| 第五节 | 基因组编辑技术在海水鱼类遗传改良中的应用展望 | 561 |
| | 参考文献 | 562 |
| 第十八章 | 鲆鲽鱼类全基因组选择育种技术的建立与应用 | 564 |
| 第一节 | 引言 | 564 |
| 第二节 | 全基因组选择的基本原理 | 566 |
| 第三节 | 鱼类基因组 SNP 标记遗传效应及基因组育种值的预测方法 | 567 |
| 第四节 | 牙鲆全基因组选择技术的建立及‘鲆优 2 号’良种的创制 | 569 |
| 第五节 | 半滑舌鳎抗病性状的全基因组选择技术的建立 | 580 |
| | 参考文献 | 587 |
| 第十九章 | 鱼类基因组及其育种技术的发展战略与建议 | 589 |
| 第一节 | 鱼类基因组及其育种技术研究存在的主要问题 | 589 |
| 第二节 | 发展战略与关键技术 | 591 |
| 第三节 | 重点科研计划项目建议 | 592 |
| 第四节 | 展望 | 594 |
| | 参考文献 | 595 |
| 附录 1 | 缩略词 | 596 |
| 附录 2 | 基因/蛋白质名称 | 601 |

第一章 鱼类基因组及重要性状相关功能 基因研究进展概述

第一节 引言

基因组 (genome) 一词是 1920 年由 Winkles 根据 GENes 和 chromosOMEs 两个词组合而成, 指一个生物体所有的遗传物质, 是用于描述生物的全部基因和染色体组成的概念 (夏庆友和向仲怀, 2013)。1986 年美国科学家 Thomas Roderick 提出了基因组学 (genomics) 的概念, 主要是指对某种生物所含有的基因进行基因组作图 (包括遗传连锁图谱、物理图谱、转录图谱)、核苷酸序列分析、基因定位和基因功能分析的一门科学 (李伟和印莉萍, 2000)。传统基因组学主要指以全基因组测序为目标的结构基因组学 (structural genomics) 和以基因功能分析为目标的功能基因组学 (functional genomics) (赵晋平等, 2006)。其中结构基因组学主要研究基因组的结构、组成与进化, 功能基因组学主要研究基因组的表达与功能, 因为基因组功能包含转录和编码蛋白质, 所以功能基因组学通常还包括转录组学和蛋白质组学的研究内容 (Liu, 2007)。

第二节 全基因组测序技术发展概述

全基因组测序是指对某种生物的全基因组序列进行测定和排列顺序。主要包括构建不同大小片段的基因组 DNA 文库, 对不同 DNA 片段进行核苷酸序列分析, 利用生物信息学技术对不同片段的序列进行拼接、组装, 最终获得该物种的全基因组序列图谱。全基因组测序是破译鱼类基因组密码、发掘基因组资源、鉴定重要功能基因的关键步骤。通过全基因组测序可以获得某种生物基因组和重要功能基因的序列信息, 揭示该物种的进化史, 了解该物种生殖、发育、生长和适应环境的分子机制。随着 DNA 测序仪及生物信息学技术的不断发展, 在不同阶段开发出了不同的 DNA 测序技术, 从最初的 Sanger 手工测序法到以 Sanger 末端终止法为基础发展起来的第一代自动化测序技术, 发展到包括 Illumina 公司的 Solexa 技术、罗氏公司的 454 测序技术和 ABI 公司的 SOLiD 技术等第二代测序技术, 再到现在的包括单分子实时测序技术和纳米孔测序技术等在内的第三代测序技术 (邵长伟, 2012)。

一、第一代测序技术

第一代测序技术是指最早使用的 Sanger 手工测序法和以 Sanger 末端终止法为基础发展起来的第一代自动化测序仪。在 1977 年面世的 Sanger 末端终止法开创了 DNA 测序的先河, 但由于这种方法采用手工操作, 通量低, 成本高, 速度慢, 效率低, 并且使

用放射性同位素，未能在基因组学测序研究中得到推广应用（张俊杰，2013）。

后来发展出以 Sanger 末端终止法为基础并得到广泛应用的第一代自动化测序仪，它利用荧光聚丙烯酰胺凝胶电泳和荧光信号自动采集系统记录片段信息，后来又改为利用自动化毛细管电泳，提高了测序通量和速度，降低了测序成本，并促进了人类基因组计划的实施和完成。ABI 公司的 3730XL 是这类测序设备的典型代表。这类测序设备具有测序精度高，并能得到较长的测序读长等优点，至今还在世界各地广泛使用，主要用于 PCR 产物的测序和文库克隆的末端测序，还可以进行一些小片段分析和基因分型研究，在一些物种的物理图谱和遗传图谱构建等工作中发挥重要作用。红鳍东方鲀是采用第一代测序技术完成全基因组测序的鱼类（Aparicio et al., 2002）。

二、第二代测序技术

由于 Sanger 末端终止法测序技术通量低、速度慢，且测序成本高，满足不了大量生物全基因组测序的需要，于是高通量二代测序技术应运而生，并且很快应用到大量生物的全基因组测序中。大熊猫基因组是首个采用高通量二代测序技术完成测序的全基因组 *de novo* 序列（Li et al., 2010）。第二代测序技术的代表性仪器包括美国 Illumina 公司的 Solexa 测序仪、美国罗氏公司的 454 测序仪和 ABI 公司的 SOLiD 测序仪。这些新型测序仪都采用了循环芯片测序法（cyclic-array sequencing）。这种测序技术的开发、应用极大地提高了测序通量和速度，使得测序成本下降至毛细管自动化电泳测序方法的 0.01%~1%，从而使大规模全基因组测序或重测序成为可能。第二代测序技术一问世，就受到了全世界基因组学领域科学家的重视与关注。第二代测序技术也成为当今水产生物全基因组测序所用的主要方法。

三、第三代测序技术

第二代测序技术虽然大大降低了测序成本，提高了测序速度，但仍然存在一些不足。由于第二代测序技术仍然是建立在 PCR 扩增的基础上，因此存在读长短、扩增前后有偏差等问题，如 454 测序技术的读长为 500 bp 左右，而 Illumina 公司基因测序技术的平均读长仅有 100 bp，ABI 公司 SOLiD 测序系统的读长更短。这些特点使得第二代测序技术特别是后两种测序技术的测序结果进行拼接需要大量生物信息学分析工作，影响了基因组组装的效果（邵长伟，2012）。此外，第二代测序技术都需要灵敏的光学检测系统及记录、存储并分析大量的光学图像，大大增加了测序成本。这些问题促使第三代测序技术的诞生。第三代测序技术主要包括单分子实时 DNA 测序法、合成测序法及纳米孔外切酶测序法等（表 1-1）（邵长伟，2012）。其中 Helicos 技术主要是基于合成测序的原理，采用一种新的荧光类似物和灵敏的监测系统，直接记录单个碱基的荧光，从而克服了其他方法需同时测数千个相同基因片段以增加信号亮度的不足。而 Pacific Biosciences 公司的单分子实时 DNA 测序法则充分利用了 DNA 聚合酶的特点，可以通过显微镜实时观测 DNA 聚合酶，并记录 DNA 合成的整个过程。纳米孔外切酶测序法则是利用不同碱基在通过纳米小孔时引起的静电感应不同，或者不同碱基通过小孔的能力各有差异的原理，区分不同的碱基信号（邵长伟，2012）。尽管第三代测序技术具有

通量高、成本低、准确性高等很多优点,但目前实际应用还不多。随着第三代测序技术的日益完善和普及,测序成本将大幅下降,测序的读长显著增加,这项新的高效测序技术必将推动基因组学研究的快速发展,也将会使更多的鱼类完成全基因组测序,加快鱼类基因组资源的发掘及其在鱼类遗传育种和养殖业中的应用。

表 1-1 全基因组测序技术的发展 (引自邵长伟, 2012)

| 技术 | 公司 | 测序仪 | 测序方法 | 检测方法 | 读长/bp | 优点 | 缺点 |
|-------|--------------------|------------------|---------------|---------------------|----------|---|--------------------------------------|
| 第一代技术 | ABI 公司/生命技术公司 | 3130XL-3730 XL | 毛细管法电泳测序法 | 荧光/光学 | 600~1000 | 读长较长,重复性好,准确性好 | 通量低 |
| 第二代技术 | 罗氏公司 | 基因组测序仪 FLX 系统 | 焦磷酸测序法 | 光学 | 230~400 | 在第二代中读长最长 | 样品制备较难,仪器贵 |
| | ABI | 5500X ISOLiD 系统 | 连接测序法 | 荧光/光学 | 25~50 | 高通量 (100 Gb) | 测序运行时间长,读长较短,仪器贵 |
| | Illumina 公司 | HiSeq2000/mi Seq | 可逆链终止物和合成测序法 | 荧光/光学 | 2×150 | 高通量 (200 Gb) | 读长较短,仪器贵 |
| 第三代技术 | 赫利克斯 | Heliscope | 单分子合成测序法 | 荧光/光学 | 25~30 | 高通量 (35 Gb) | 读长较短,仪器贵 |
| | 太平洋生物科学公司 | PacBioRS | 单分子实时 DNA 测序法 | 荧光/光学 | 1000 | 读长较长,测序时间短,不需扩增 | 准确性较差 (81%~83%),DNA 聚合酶易降解,单个碱基测序费用高 |
| | Ion Torrent/生命技术公司 | 个人基因组测序仪 (PGM) | 合成测序法 | 以离子敏感场效应晶体管检测 pH 变化 | 100~200 | 直接测定核酸碱基的掺入,在自然条件下进行 DNA 合成 (无需使用修饰的碱基) | 洗脱过程长,可导致错误累积,阅读重复序列和同种多聚序列时有困难 |
| | 全基因组学公司 | GeXP 遗传分析仪 | 复合探针锚杂交和连接技术 | 荧光/光学 | 10 | 在第三代中通量最高,成本低,准确度高 | 读长短,样品制备复杂,尚无商业化供应的仪器 |
| | 牛津纳米孔公司 | gridION | 纳米孔外切酶测序法 | 电流 | | 读长较长,低成本,无需荧光标记或光学手段 | 切断的核苷酸有时读错方向,难以研制出带多重平行孔的仪器 |

第三节 鱼类高密度遗传连锁图谱构建研究进展概述

遗传连锁图谱是通过计算重组率并将其换算为遗传距离标示图距,用于显示分子标记或基因在染色体上相对位置的图谱。遗传连锁图谱在基因组研究中具有重要作用,通过遗传连锁图谱可以了解分子标记和基因在基因组中的大体位置,作为坐标来辅助基因组的组装。而图谱中的分子标记,可用于群体遗传学分析、种质鉴定、QTL 定位及分子标记辅助育种等研究。遗传连锁图谱的质量高低是由定位在图谱上的标记数量,即 2 个标记间的距离来确定的,标记数量越多,标记间的距离越小,表示图谱的密度越高,图谱的质量越好。因此构建高密度遗传连锁图谱是进行鱼类基因组组装的关键步骤之一,也是鱼类基因组研究的重要内容。

早期的遗传连锁图谱构建的基础是表型连锁分析,采用的作图标记是物种的形态、细胞学或生化标记。随着生物技术的进步和基因组学的发展,由分子标记构建的遗传图谱逐步取代了经典的遗传图谱。构建遗传连锁图谱的分子标记主要有限制性内切酶片段长度多