

第四次全国畜禽遗传标记 研讨会论文集

PROCEEDINGS OF 4TH NATIONAL SYMPOSIUM ON
ANIMAL GENETIC MARKERS

中国畜牧兽医学会畜禽遗传标记学分会

Research Branch of Animal Genetic Markers

Chinese Association of Animal and Veterinary Sciences

中国 · 广州

1993年11月11-14日

Guangzhou, China November 11-14, 1993

第四次全国畜禽遗传标记研讨会论文集

Proceedings of 4th National Symposium on Animal Genetic Markers

中国畜牧兽医学学会畜禽遗传标记学分会

Research Branch of Animal Genetic Markers

Chinese Association of Animal and Veterinary Sciences

中国 · 广州

1993 年 11 月 11-14 日

Guangzhou , China

November 11-14, 1993

目 录

一、遗传标记的研究现况 (综述)

- 1、稳步发展遗传标记学科.....陈幼春 [1]
- 2、动物遗传学研究新进展
——23届国际动物遗传学会年会简介.....张细权 [3]
- 3、关于遗传标记类型的思考.....张继全 [6]
- 4、遗传工程在畜牧业生产中的应用.....李积友、白雅琴 [8]
- 5、微卫星DNA(Microsatellite DNA)在遗传标记及
基因图绘制中的应用.....张 跃 [13]
- 6、鸡的主要组织相容性复合体(MHC)的结构和机能.....程光潮 [17]
- 7、肉鸡腹脂和体脂遗传标记的研究进展.....顾志良 [22]

二、生化遗传学

- 8、中国黄牛血液蛋白多态性与特殊血缘的研究....王敏英、陈幼春等 [27]
- 9、牦牛、黑白花奶牛和奶山羊乳蛋白多态性聚丙烯酰胺凝胶
电泳分型的研究(摘要).....张学舜、陶 莉等 [32]
- 10、中国五个地方山羊品种血液蛋白多态性及
分类的研究.....欧阳叙向、尹镇华等 [33]
- 11、大尾寒羊和小尾寒羊血红蛋白及转铁蛋白的
遗传多态性研究.....庞有志、邹继业等 [39]
- 12、青海细毛羊红细胞钾浓度多态性的初步研究...张才骏、张武学等 [46]
- 13、滩羊种质及血液遗传标记研究
I 血红蛋白(Hb)多态性的变异.....李积友、韩建林等 [50]
- 14、MDH和G6PD同工酶在家鸡个体发生中的表现特征.....马建岗 [54]
- 15、建昌鹅血清运铁蛋白(Tf)多态性的研究.....陶莉、张学舜 [60]
- 16、鸭血清碱性磷酸酶同工酶表现型的研究.....宋建捷、陈晖等 [61]

三、细胞遗传学

- 17、家猪精子单倍染色体及其G显带的研究.....王子淑、田素娟等 [65]
- 18、中国地方猪种的染色体特征.....柳万生、路兴中等 [73]
- 19、13/17染色体易位纯合子猪(2N=38)与正常核型家猪
(2N=38)的杂交试验.....孙金海、赵志辉等 [83]
- 20、九龙牦牛高分辨G带带型的研究.....钟金城、钟光辉等 [87]
- 21、青海省东部农业区良种奶牛染色体畸变的研究
.....张武学、张才骏等 [91]
- 22、家兔6品种Ag-NORs的比较研究.....赛 音、郭荣昌等 [99]

四、分子遗传学

- 2 3、畜禽的DNA多态性及其应用孟安明 [101]
- 2 4、人工合成的简单重复序列的克隆及DNA
指纹分析.....范青林、孟安明等 [105]
- 2 5、用串联重复的寡核苷酸进行动物的DNA指纹分析
.....范青林、孟安明等 [109]
- 2 6、限制性片段长度多态性(RFLP)在几个绵羊品种中的研究
.....曹红鹤、T. K. Mukherjee等 [114]
- 2 7、猪生长激素基因分子克隆的初步研究.....江建平、肖永祚等 [121]
- 2 8、探测Sry标志基因可以准确地鉴定家畜胚胎性别(摘要)....武 彬 [125]

五、遗传标记在畜禽生产中的应用

- 2 9、利用标记基因选配杂交亲本程光潮、刘树俊等 [127]
- 3 0、生化遗传标记在牛亲子鉴定中的作用王毓英、张志武等 [133]
- 3 1、陕西黄牛群体遗传多态性及其系统地位研究...耿社民、常 洪 [137]
- 3 2、滨白鸡纯系及杂交组合的种群关系分析曹 克、杨 山等 [139]
- 3 3、北京鸭血浆蛋白多态性的研究
I、北京鸭品系间种群关系分析.....陈 雷、杨学梅等 [144]
- 3 4、小群保种的研究——不同保种鸡群血清蛋白(酶)多态性的测定
.....黄凡美、张学余等 [149]
- 3 5、京星肉鸡亲本杂交配套效果与血型基因的遗传距离研究
.....李 东、程光潮 [152]
- 3 6、济宁市北郊种鸡场白壳蛋鸡血型及血浆蛋白质(酶)
多态测定结果.....李晓燕、程光潮等 [159]
- 3 7、遗传独特性与品种保护等级划分张志武 [166]
- 3 8、滩羊双胎特性的遗传学研究——血红蛋白多态性的变异
.....李积友、韩建林等 [170]
- 3 9、不同日龄发育鸡胚淀粉酶Amy-1多态性分析.....张细权、吴显华 [172]
- 4 0、死亡鸡中血液淀粉酶Amy-1表型分布的初步调查
.....张细权、吴显华等 [177]
- 4 1、不同品系蛋鸡间蛋白质(酶)多态遗传差异的研究
.....李海涛、杨 山 [181]
- 4 2、血清淀粉酶与乳成份的相关分析唐鼎恩、张志武等 [186]
- 4 3、二花脸猪白细胞抗原(SLA)与产仔性能关系的研究
——太湖猪白细胞抗原系列报告之三.....王林云、刘根桃 [188]
- 4 4、鸡血液中同功酶与体重的相关研究.....周怀军、周勤宣等 [197]
- 4 5、鸡血清GTP与产蛋性能关系研究李秀元、金在云等 [204]
- 4 6、北京鸭血浆蛋白多态性的研究
II、后转铁蛋白多态性与体重的相关性.....陈 雷、杨学梅等 [210]
- 4 7、莆田黑鸭血清碱性磷酸酶同工酶表现型及其与生产性能的关系
.....宋建捷、陈 晖等 [214]

稳步发展遗传标记学科

陈幼春

(中国农业科学院畜牧研究所, 北京100094)

以免疫遗传、生化遗传和分子遗传为标记的动物遗传学是目前世界上蓬勃发展的学科。对人类提供产品越是重要的畜种, 在这方面的研究也越是发达。下面就各畜种为别作一简略介绍。

一、动向

猪——猪的血型研究依然是热门, 已探明的有15个血型系统, 含77个血液因子, 酶的方面有18种蛋白型共90个变异蛋白, 脂肪方面有2个系统20个抗原因子。随着新的因子的发现, 这些因子用于染色体分带的分子化学分析和基因图的研究。在丹麦深入地用于猪的选育(P. B. Nelsen), 在捷克用于标记选择蛋白酶抑制因子于代谢类型的研究(J. Hojny), 并在酶系统上提出新的命名法, 如腺嘌呤脱氨基系统(ADA), 磷己酮同功酶系统(PHI)等等。而生长素在中国猪与欧洲猪之间差异对比尤其引人注目(C. K. Tuggle)。

绵羊——绵羊血液型的报道相对要少得多。新因子发现也较少, 但在应用上, 如血红蛋白型与受胎率(M. Kmiec), 拱形脚症状的遗传标记(F. E. Niekerk), 卡拉库尔羊羔皮花卷长度, 皮厚度等与运铁蛋白型的关系(G. M. Abilova)等也不少见。如血清白蛋白与维生素B结合蛋白间的关系(G. Erhardt)对绵羊代谢型的选择是非常有意义的。

山羊——除在品种间遗传距离测定以外, 如血红蛋白与红血球谷胺酸硫浓度间关系的研究, 奶山羊酪蛋白类型与生产奶酪品质并产量关系的研究, 都直接用于指导生产和选种。这些工作在欧洲各国开展得较好。

牛——牛的遗传标记研究在国际上依然是最活跃的一支, 牛的血型、生化多态型和DNA类型的标定工作, 将于1993年9月在美国得克萨斯州进行。鉴于生物多样性保护的需要, 在引种改良工作上取得杂交优势的需要, 一些发达国家打算利用其他国家畜种资源, 进一步发展本国的生产, 也借助于血型的研究。一些发展中国家针对本国经济的高速增长和预测繁育体系的效益, 也广泛应用血型技术, 包括对肉用性能和繁殖性能的遗传标记。用标记辅助选种技术则是各国都感兴趣的课题。

牛乳蛋白多态型是非常实用的研究手段, 在生产奶酪的国家对乳蛋白生理学和加工工艺与乳蛋白多态型的关系已引用在选种上, β -乳球蛋白, 各种成分的白蛋白、酪蛋白成分在品种、家系内出现的频率都是大家感兴趣的。牛 α -S1酪蛋白的核酸顺序, 编码都已纳入基因组的研究范围(D. Koczan)。K-酪蛋白PCR技术作鉴别也有不少报道(P. Schillee)。

由于牛属动物具有异性双胞胎不育症的问题，用XX/XV探针监测嵌合体公牛也在研究之中。

牦牛和水牛——这两种牛的分布不如普通牛宽，但血型的研究也是常有的（这里从略）。

禽——家禽的血液型和白血球抗原已有了国际对比，尤其是组织相容性复合体(MHC)的DNA标准化会议，有了很大的进展。B基因复合体的命名也由国际动物遗传协会(ISAG)成立专门的禽免疫遗传学委员会来指导这项工作。

基因图谱

到1992年8月悉尼会议为止，绵羊基因图研究已明示有89个位点，这些位点的定位大部分是通过原位杂交和体细胞遗传学的研究所得的。牛基因图的研究已揭示300个位点，283个已有编码，其定位是用杂交细胞分析法与原位杂交技术为主要分析手段取得的。由于微星体技术的发展，牛方面已报道有400个微星体。近期有微分割(Micro dissection)技术，原位杂交荧光法和单股结构多态型技术(Single-strand conformation polymorphism)的应用，加快了这一领域的进展。在猪的基因图研究中，十分强调与体躯结构的连锁研究，而中国猪，微型猪和欧洲猪的杂交是很重要的研究方式。禽的基因图谱也是近期迅速发展的一支，美、英、加、澳、以色列并日本、荷兰在这方面是领先的国家、自爱丁堡国际会议以来不到三年，基因图谱研究在发达国家已进入鼎盛时期。

二、小结

血型、包括蛋白多态型的应用已从普通家畜扩大到鹿、鱼和其他动物，在选种上的应用效果是肯定的，并深入到家系和优秀个体的鉴定，基因图谱研究工作已在国际上展开。家畜生产是现代化农业的高效率的组成部分。但我国在这方面的研究注意得很不够，对此认识也比较肤浅，力量很薄弱。我国在牛和猪品种聚类上有比较系统的应用血液蛋白型的实例，但尚未充分地用于其他种类，加上国际上在DNA技术上的突飞猛进，一些力量过于热衷于指纹等高层次的研究，但仪器设备和经费又跟不上，哪一方面也未系统进行。而发达国家将血型等纳入统一的基因图谱的工作，完善了基因定位的工作，在指导畜种改良上充分体现出连贯性、丰富性和充实的内容，因此遗传标记的研究，从宏观指导到微观的安排，我国都要学习，以更好地发挥这个学科在家畜选种上的效果。

动物遗传学研究新进展

——23届国际动物遗传学会年会简介

张细权

(华南农业大学畜牧系, 广州510642)

第23届国际动物遗传学会(The International Society for Animal Genetics, ISAG)年会于1992年8月3日至7日在瑞士的Interlaken市召开, 本人受农业部遣派参加了这次会议。现将这次会议的一些情况介绍于下, 并对会议上发表的论文作一综述, 以供同行参考。

一、会议概况

参加这次会议的正式代表超过400名, 来自世界各地38个国家和地区, 其中以欧洲代表和美洲代表(主要是美国和加拿大)居多, 亚洲的日本也有15位代表参加了这次会议。中国参加这次会议的代表共有3人。

会议共开了5天时间, 但在会前会后及会议期间还安排了一些专题讨论会(Workshop programme)。这次会议共进行了18场的大会报告, 另有250篇论文参加了板报交流。会议安排的最后一项内容是关于学会事务性工作的议程, 包括财务、改造理事及秘书、专题讨论会工作总结等, 学会理事会最后确定24届年会在捷克的布拉格市举行, 届时将举行学会成立30周年庆典。

二、动物遗传学研究的进展概况

国际动物遗传学会(ISAG)致力于(1)鼓励动物组织和体液中遗传性状的研究以及(2)开展研究人员之间学术思想与试验资料的交流。动物遗传学的基本研究领域包括免疫遗传学、生化遗传学和分子遗传学, 每两年一届的年会所发表的学术论文即反映了上述领域的最新进展。下面分三部分介绍23届年会发表论文的情况。

1、大会报告

在23届ISAG年会上, 共进行了18场的大会报告。这些报告题目如下: (1)遗传多态性: 动物育种中血型、生化和分子标记研究的回顾和展望(德国慕尼黑大学F. Pircher), (2)蛋白质结构和功能的研究——从遗传标记到诊断工具(瑞士Basel大学的A. Eberle), (3)酪蛋白多态性的作用——一个数量性状位点(QTL)的例子: 山羊的 α_{s1} ——酪蛋白(法国INRA的F. Grosclaude), (4)转基因鼠对理解免疫系统的贡献(瑞士Basel大学H. von Boehmer), (5)MHC II类分子抗原结合部位的进化(瑞典Uppsala大学L. Andersson), (6)改良免疫应答对家畜健康状况的影响(加拿大Guelph大学B. Wilkie), (7)血型测定服务中的一种新方法(瑞典农业大学K. Sandberg), (8)动物育种中重组DNA方法和产物的专利保护(德国J. Strauss), (9)快速准确测定DNA多态性方法研究的进展(瑞典

Uppsala大学L. Andersson), (10) 马的谱系和同一性检验 (Identity verification): 新的DNA标记和一种新的测定技术 (美国M. R. Knapp), (11) 亲缘检验中DNA标记的国际标准化 (美国J. Caldwell), (12) 牛基因图研究的方法、战略和现状 (瑞士苏黎世大学R. Fries), (13) 用初始DNA标记图谱进行复合性状遗传分析 (美国GENMARK的M. Georges), (14) 家畜改良中的标记辅助选择 (美国Wisconsin大学M. Dentine), (15) 生物技术中的转基因哺乳动物 (瑞士Basel大学K. Bürki), (16) 人类遗传学和动物遗传学 (德国Bamberg大学W. CH. Zimmerli)。这些大会报告回顾了近年在动物遗传学研究尤其是DNA水平上的进展。

2、板报交流

跟22届年会相似, 本届年会的板报交流也分7个专题, 即①红细胞血型血清学和遗传学 (15篇), ②生化多态性和遗传学 (45篇), ③主要组织相容性复合体 (30篇), ④免疫应答 (21篇), ⑤分子遗传 (63篇), ⑥基因作图和连锁 (53篇), ⑦性状与标记的联系 (23篇)。与上届有所不同的是, “基因作图”在本届年会已独自成为一个专题, 而“分子遗传”这一专题也已从红细胞血型与连锁分析扩大至包括红细胞、白细胞血型、生化多态性、DNA多态性等方面DNA水平的内容。

这届年会参加板报交流的论文共有250篇, 比上届多了78篇, 尤其是“分子遗传”以及“基因作图与连锁”的论文增加较多。各个专题都报道了近两年来的研究工作, 反映了各自的进展水平。

(1) 红细胞血型血清学和遗传学: 在本专题的15篇论文中, 报道了一种牛的新抗体及马的红细胞异型抗原的一个新系统, 另有一篇论文报道了采用印影分析系统 (Image Analysing System) 对牛血型测定作自动微溶血测验, 其它论文则分别测定了一些地方畜种或育种群体的血型基因频率, 并讨论了它们的意义。来自俄罗斯的一篇报告给出了西伯利亚黑白花奶牛的血型指数及其在杂交过程中的指数变化。

(2) 生化多态性与遗传学: 本专题45篇论文除报道一些地方畜种的生化多态性外, 有相当多的论文报道鹿、麋、欧洲红鹿、狐、野猪、兔 (野兔)、狗及鱼等动物生化多态性, 新的生物化学物质如补体、G-异型抗原、酶抑制因子等多态性也有不少论文报告。

(3) 主要组织相容性复合体: 同上届一样, 研究主要组织相容性复合体 (MHC) 的论文以DNA水平上的居多, 同时也有一些关于MHC生化学、血清学方面的论文。而上届年会DNA水平研究MHC以RFLP叙述的居多, 虽然本届也有不少论文研究MHC基因的RFLP, 但在研究中已广泛地采用了PCR技术以及微星体 (Microsatellite) 技术。

(4) 免疫应答: 参加本专题交流的论文有21篇。这些论文报道了各种畜禽淋巴细胞、红细胞的免疫应答反应, 一些论文从DNA水平研究免疫应答物质, 也有一些论文研究免疫系统与一些畜禽疾病 (如鸡马立克病、猪的 *Trichinella spiralis* 等) 的关系。

(5) 分子遗传学: 这一届年会关于分子遗传学方面的研究报道大幅度增加, 研究的内容也有所扩大, 不仅从分子水平研究了基因的表达、多态性等——这些基因包

括性别决定基因、HSP70基因、 α_{s1} -、 α_{s2} -、 β -、K-酪蛋白基因、 β -乳球蛋白基因、POU domain基因、乳清酸蛋白基因、生长BetaZ-lacZ融合基因等,而且DNA指纹技术、DNA克隆、PCR技术、微星体技术等得到了广泛的应用。论文不仅报道RFLP、mtDNA和VNTR等已为大众所周知的DNA多态现象,还报道了微星体DNA多态现象、随机扩增多态性DNAs(RAPD)标记等。

(6) 基因作图与连锁: 动物基因作图的工作由于受人的基因作图工作的影响而受到重视, 尤其是对于猪、牛、鸡等畜禽物种, 因此本届年会关于这方面的论文也大量增加, 其中尤以关于猪的基因作图的论文占多数。有关基因作图与连锁的论文亦多以DNA水平的为主, 同时, 经过近年来的不懈努力, 作为标记的基因数进一步增多。由欧共体赞助的猪的基因作图工作在此值得一提, 这一工作共组织了10个实验室参加, 并且目前已有35个基因座位已被确定为属4个新的连锁群。

(7) 标记与性状的联系: 本届年会关于这方面的论文数与上届年会相仿, 有23篇, 增加不多。论文主要涉及一些基因与经济性状、抗性、生理生化功能等的关系, 如牛主要组织相容性复合体与生产性状的关系、奶蛋白与泌乳的关系、G-6-PD多态性及活性与奶及脂产量的关系、转铁蛋白与乳房炎的关系、BoLA与生产和繁殖性状的关系、生长激素基因异型与生产性状的关系, 鸡的内源病毒基因与生产性状选择的影响等。

3、专题讨论(Workshop programmes)

随着动物遗传学的发展, 与会代表要求在各自的专题范围内进行深入地交流。这次会议先后进行了5次专题工作会议, 其中包括: (1) 动物育种中DNA测定方法的应用, 交流了新的测定技术; (2) 免疫遗传学: 对鸡等动物的主要组织相容性复合体(MHC)基因的研究进行了广泛的讨论。另外3次专题工作会议, 主要涉及牛(包括绵羊和山羊)基因图、猪基因图 and 家畜基因图研究工作, 对牛、绵羊和山羊染色体同源性、基因图相似性进行了讨论, 对猪基因连锁组别的划分进行了修正, 对整个畜禽基因图的研究部署和应用前景作了初步的安排和估价。

关于遗传标记类型的思考

张维全

(中国农业科学院畜牧研究所 北京100094)

本文试图对遗传标记进行分类处理,并讨论各类遗传标记的研究内容和方法,期望能对遗传标记的概念有更全面、更深刻的认识,从而推进遗传标记的研究。

1、显性遗传标记

1.1 显性遗传标记的概念

不论是经典的血液蛋白质多态性研究,染色体多态性研究,还是近来兴起的核酸多态性(包括序列分析, RFLP, DNA指纹, RAPD)研究,都有三个共同的特点:(1)不对研究对象,即生物个体,进行任何前处理,直接进行采样分析;(2)认为所研究的项目对于生物个体来讲是稳定不变的,对于核酸,更是如此。简言之,不论从哪个角度讲,研究的都是直接能够进行分析的遗传标记,不妨称之为显性遗传标记。

这就引出了是否存在隐性的遗传标记问题。我认为回答是肯定的,但在讨论这一问题之前,我们仍继续进行显性遗传标记的讨论。

1.2 显性遗传标记的再分类

有的动物适于肉用,但这并不意味着其肌肉组织的主要蛋白质及基因与非肉用动物有什么不同,事实上二者即使有差别,也很小;有的动物品种生长快,但这并不意味着这些品种生长激素结构及其基因与较慢生长速度的品种有多大区别,事实上二者同源性非常高。

因此,看来去寻找“肉用”或“生长快”之类的遗传标记,光看表现相应性状的蛋白质结构和基因结构,收获是不大的。因为编码蛋白质的基因是结构基因,我们不妨将这类标记称为结构性显性遗传标记。

从细菌的基因表达调控知识,我们知道同一结构基因置于不同的启动子之下,其表达水平会有几十倍乃至上千倍的差异。这就提示我们造成高等生物性状差异的原因也主要是蛋白质(如主要肌肉蛋白,乳蛋白,生长激素,促黄体激素等)的调节序列不同。因此,应该把研究的重点放在调节序列的多态性上,我们可以将这类遗传标记称为调节性显性遗传标记。

1.3 调节性显性遗传标记的研究方法

这还是一个有待研究的课题。可以设想的研究内容和方法有:(1)比较性状表现明显不同的品种间主要蛋白质基因调节序列的异同,前提是先寻找到其调节序列;(2)弄清调节序列的差异是怎样造成性状的差异的;(3)同一结构基因置于不同的调节序列控制之下,然后,用转基因的方法研究调节序列的作用。

2、隐性遗传标记

2.1 隐性遗传标记的存在

王瑞祥等在太湖猪高繁殖力遗传基础的研究中揭示出，枫泾和长白这两个繁殖力显著不同的品种，其诱导的LH水平也有显著不同；在实际应用中，以诱导的LH水平作为繁殖力的遗传标记进行早期筛选，取得了预期的效果。

象诱导的LH水平这种遗传标记，只有在用一定的方法进行诱导时才会显现出来，但又具有遗传特性，因此可以认为属于隐性遗传标记。可以设想，诱导时不同品种间LH水平的差异是因为LH表达水平的差异造成的，而表达水平的差异则是由表达调控机制的差异造成的。研究表达调控机制的差异，可能也是在诱导的情况下比较方便，因此也可将表达的调控机制视为隐性遗传标记。

一般来讲，可以将高等生物视为一部自动运转的机器，运转的程序“写”在染色体上，大体上是比较固定的。但外界环境仍然会对这一“程序”的运行产生影响，影响的方式及程序有些可以具有个体或品种特异性，因此可以将这些视为遗传标记。因为只有在特定的环境影响下才表现出来，可以将之视为隐性遗传标记，上述诱导的LH水平就是这样一个例子。在饲以猪高锌日粮时特定的组织产生特异mRNAs。如果不同品种猪在同样处理下产生的特异mRNAs有所不同，则这些多态性RNA亦可视为隐性遗传标记。至于作为什么性状的标记，那是另外需要研究的问题。

2.2 隐性遗传标记的研究方法

这里只能谈一些设想。

如果将生物体作为一个具有多个结构部件和调节部件的系统，就可以使用一般的系统分析方法进行隐性遗传标记的研究。常用的方法是给系统一个或数个输入（诱导、刺激、逆境等），分析系统的输出（反应）特性。前述诱导LH水平的分析就是一例。

应该注意到生物系统在不同的发育时期具有不同的基因表达模式，因此可以预期相同的输入在不同的发育时期会有不同的输出。我们期望通过适当的把握这种时期，使生物体的输入输出模式具有特异性，并且能成为所选择性状的遗传标记。

遗传工程在畜牧业生产中的应用

李积友 白雅琴

(甘肃省畜牧总站遗传繁育室, 兰州730030)

摘 要

本文从细胞水平的遗传工程和分子水平的遗传工程(基因工程)两方面综述了遗传工程在畜牧业生产中的应用, 进而展望了遗传工程在动物育种中的前景。

遗传工程又称DNA重组。就是按照人们预先设计好的生物蓝图, 在分子水平上对基因进行外科手术, 人为地将不同生物的遗传物质(基因) 进行人工“剪裁”, “组合”、“拼接”, 使遗传物质得以重新组合。然后通过载体或直接转入受体, 进行无性繁殖, 并使新的基因在受体细胞内表达, 产生出人类所需要的物质, 或组建出新的生物类型, 以达到定向改变生物性状的目的。近代遗传学, 特别是分子遗传学的飞速发展对人类社会的影响日益扩大, 1974年出现的遗传工程是今日生物科学的高峰, 它为核酸的分割、基因的转移和新类型生物的塑造与合成提供了可能, 也就是说, 人类将可以按自己的意愿创造自己所需要的生物。目前, 遗传工程所取得的成果是巨大的, 但还是初步的, 它和实际应用还有一个相当距离, 现在仍处于实验阶段。尽管如此, 它是带有方向性的, 前途是不可限量的。例如, 通过遗传工程的研究将可阐明基因的结构与功能; 揭示生命的本质; 澄清癌变的机理; 实现对农业、工业、医疗卫生事业发展的重大变革等等。凡此种种充分表明, 遗传工程的研究, 不仅极大地推动生物学基础理论研究, 而且给人类展现了灿烂的应用前途。

遗传工程在农牧业上的应用, 可望快速培育出高产、优质、抗性强的优良作物品种以及低脂肪、高蛋白的新禽畜品种。据估计, 一般通过有性杂交选择法育成新类型的速度比自然进化的快一万倍, 而采用遗传工程则可把这一速度提高到一亿倍到十亿倍。

遗传工程用于畜牧业, 无疑会加快畜牧业的发展, 本文仅就遗传工程与畜牧业的发展作一概述。

一、细胞水平的遗传工程(繁殖生物学技术)

(一) 胚胎移植技术

除了人工授精、同期发情、超数排卵技术外, 现在畜牧生产中最引人关注的是胚胎移植技术。胚胎移植的方法有两种: 一是外科手术法, 对受体施行外科手术, 暴露输卵管和子宫角内; 另一是非手术法, 将移植器插入直肠, 刺破直肠壁和子宫壁, 把胚胎注入子宫角内; 或用类似输卵管的移植器, 经子宫颈将胚胎直接注入子宫内。胚胎移植结果的好坏常以妊娠率的高低来评定, 因此, 近年来对影响胚胎移植妊娠率的因

素进行了广泛的研究。这些影响因素主要包括：胚胎的年龄和质量、移植胚胎的数目、移植的部位、受体与供体发情周期化程度、鲜胚与冷胚、移植方法和操作人员的技能与经验等。现已证实，3-4日龄牛胚胎的移植成活率比稍后阶段的胚胎要低，目前多数家畜的移植胚龄为6-8天。但超过6日龄猪胚的移植成活率明显下降。胚胎质量是影响移植成功的重要因素，但因胚胎质量的细胞学评定和质量等级划分还缺乏客观标准，结果常因评定人员和实验室不同而异。然而，如果移植比预期发育延长两天或更长的胚胎，妊娠率明显下降。

胚胎移植在动物育种中有许多重要意义：1) 遗传改良 一般认为胚胎移植技术获得的遗传进展较人工授精要慢，但随着选择强度的增加和缩短时代间隔，在种群内基础上可以得到遗传增益。在单胎动物如牛中，每个供体大概得到6个子代就可把选择强度加倍。对象生长这类性状的遗传选择的反应率有可能在两种性别中测定；2) 计划配种迄今，在家畜生产过程中胚胎移植技术最普通的用途是增殖期望的基因型。人工授精使雄性动物的遗传潜力得到广泛传播，而胚胎移植则可以用来扩大已证实是优秀雌性畜的遗传影响。许多育种学家已鉴定了其子代最畅销的雌性个体，并且专门用它们进行胚胎移植。胚胎移植技术的发展也带动了如胚胎分割及胚胎冷冻相关项目的研究。Mallen(1970)用胚胎切割产生了单卵生小鼠；Fehilly和Willadsen(1983)获得同卵的绵羊五胞胎；Ozili等(1982)通过收集1/2的胚胎进行非手术移植而获得牛同卵双生个体。这样就建立了一系列无性繁殖系，大大增加了高产动物的基因型。胚胎冷冻保存对保存遗传资源及分析群体的遗传进化都具有重要意义。

近年来，家畜胚胎移植的应用范围有了很大的发展，其重点已转移到胚胎显微操作上。现在用胚胎切割获得同卵多胎的方法已在生产上应用，产生同质动物和异质动物嵌合试验已成功。用胚胎显微注射已获得多种转基因动物。用免疫荧光测定胚胎(8-细胞-囊胚期)表面H-Y抗原，作胚胎性别鉴别的准确率可达80-90%，测定方法对妊娠率没有影响。尽管这些技术目前还处于试验阶段，但已充分显示出，它在发展畜牧业中美好应用前景。

(二) 染色体工程研究

1、牛的染色体易位：牛的着丝粒融合(罗伯逊)易位已发现了17种之多，其中以染色体1/29易位最为普遍，几乎遍及全世界，涉及到许多牛的品种。瑞典的Custavsson(1964)首先发现了1/29易位，其后又进行了十几年的研究，检查了8000头瑞典红白花牛的染色体，证明易位杂合体公牛繁殖率下降3.0-4.5%，而它们女儿繁殖率下降6%。Swartz等人报导了71头久配不孕的小母牛中13头(占18.3%)有染色体异常，对照组71头受胎正常的小母牛染色体全部正常。中国农科院畜牧研究所遗传育种室自1982-1984年用细胞遗传学方法对内蒙哲里木盆地苏系的88头西门塔尔母牛，126头种公牛和6头公犊，进行了染色体检查，发现带有易位染色体的个体共32头(母牛24头，公牛8头)，占检查总数120头的26.67%，与正常母牛相比，易位母牛的受胎率降低了17.26%。

2、猪的染色体易位：种公猪的相互易位在1964年就有报导，1982年Popescu宣布已发现10种猪的相互易位。门正明、韩建林(1984-1989)通过对家猪中性畸形个体的染色体易位和性染色质的分析，肯定了所研究的两头个体为38,XY雌性化，由于这两个体均来自甘肃白猪的武武品系，所以推断该品系中存在携带睾丸雌性化基因的种猪。在分析间性个体的生产性能之后，取得的结果表明间性在日增重等性状上与正常个体相比，并不存在优势，因此，在实际生产中应尽力淘汰和降低这种畸形。

3、性染色体嵌合：性染色体嵌合存在较普遍。性染色体组成为XXY的雌性不育在猪、羊、牛中均有报导。其中XX/XY类型的性染色体嵌合在公牛上报导较多。这些性染色体嵌合的公牛往往与受胎率低和精液品质差，睾丸发育不全相关联。在牛和马上也有X0的雌性不育的报导。牛异性双胞胎的雌性母犊一般为XX/XY的性染色体嵌合。Samsrincanu对7对异性双胞胎牛从5到270日龄的5个时间检查XX和XY细胞的比例，发现7头雌性中6头随着日龄增加XX细胞增加，XY细胞减少，1头雌性XX细胞减少，XY细胞增加。猪的性染色体嵌合以XX/XY嵌合体报导居多，但许多在解剖上表现为间性的猪具有正常的雌性染色体组型(38,XX)。

4、间性在山羊中有较高的发生率，门正明、韩建林(1987-1991)通过对马头山羊中性间性的调查和间性山羊外形、行为、生理指标、性激素、解剖、组织及细胞遗传学的系统研究，发现山羊中的间性与其它动物有明显地不同，它们是由正常雌性群体中产生的。因而间性的发生常伴有母羊比例的降低；从外部生殖器官的构造来看，习惯上将间性分为两类，但内部生殖系统解剖、组织学及性激素分析的结果则表明它们都不同程度地向雄性方向发展。他们在查阅大量有关人类和实验动物同类研究文献的基础上，首次提出了用伴有有角基因上位效应的X-Y交换模型来解释间性山羊发生的遗传机制，这已得到了群体调查结果的证实；由于在大群体中这一模型所得到的正常个体与间性之比例巧合性地为1/4，这也许就是为什么许多国内外研究报道均提出常染色体隐性基因模型的原因。

二、分子水平的遗传工程（基因工程）

重组DNA技术的发展为同种或不同种动物之间的基因转移提供了条件。目前基因转移技术在动物育种中已取得了初步进展。1980年Gordon等首次报道，用显微注射(Microinjection)的方法把外源基因注入小鼠受精卵的原核，再将注射后的受精卵移植到母鼠体内，由此产生的87只小鼠中，有2只的所需细胞都含有外源基因，但因缺乏启动子，不能表达。1982年，Palmiter和Brinster报道了一项惊人的成果，他们把大鼠生长激素基因(rGH)与小鼠的金属硫基组氨基酸三甲基内盐蛋白基因启动子(MT)并接在一起(MT-rGH)，注入小鼠的受精卵原核，再将受精卵移植到母鼠体内，由此产生21只小鼠，有6只体内生长激素水平比正常水平高800倍，因此生长速度非常快，74日龄个体比正常小鼠大概大一倍，转基因(Transgenic)小鼠还能把大鼠生长激素基因

通过配子传递给后代。在小鼠中取得的重大进展，激励人们把这种技术用于家畜的研究，实现了常规方法无法实现的目标，获得具有新遗传性状的转基因家畜。现已获得了转基因兔、绵羊和猪(Hanner等1985)。

在畜牧业方面，基因工程取得的一项重大成果是兽用疫苗的生产。1981年在美国，不久又在西德用基因工程技术生产出安全的口蹄疫疫苗。口蹄疫病毒(FHOV)含有4种衣壳蛋白质，即Vp1、Vp2、Vp3和Vp4。Kuppre分离出Vp1的基因。经重组后转化到大肠杆菌中，结果产生大量的Vp1。估计每个受体细胞能合成1000个Vp1分子。用分离提纯的Vp1接种动物后，不但能起到免疫的效果，而且安全可靠，这项成果被誉为基因工程的第一项重大突破。已研制成功的基因工程兽用疫苗还有许多，如把仔猪黄痢和犊牛腹泻的致病性大肠杆菌质粒中的K₈₈和K₈₉的基因重组到一起，研制出一种既能预防猪黄痢和犊牛腹泻的联合疫苗、预防羊腐蹄病的疫苗和狂犬病亚单位疫苗等。

遗传工程在畜牧业上取得的另一项惊人成果，就是哺乳动物胚胎的显微操作和胚胎基因转移。进行这方面研究的目的除了试图获得同卵多胎动物，同质动物和生长快、品质优良、抗病性能好的家畜品种之外，目前正在开拓新的应用范围。以转移基因为“工厂”，生产人类所需的各种药物就是扩大应用范围的一个新领域，并由此产生“分子牧场”(Molecular Farming)这一新概念。例如Wilmut等(1989)将一段外源基因的调控顺序与AAT(α -1-抗胰蛋白酶基因)编码的顺序相连接，引入小鼠胚胎，并得到表达。将此融合基因引入绵羊也已成功，说明以乳腺为“工厂”生产人类所需的药物蛋白是可能的。他们已指出，如果改变乳蛋白的组成，让奶牛分泌出人的乳蛋白，为婴儿提供更好的代乳品。另外，Harry等将酪蛋白基因的一部分与人尿激酶基因相连接，转移给小鼠，在雌性转移基因小鼠乳中，含有高水平的尿激酶，这一性状已稳定了遗传了三代。以上事实可以看出，随着遗传工程研究的不断深入，人们的设想一旦变为现实，未来的畜牧业将会呈现出一个全新面貌。

三、遗传工程在动物育种中应用的前景

预计分子遗传学在三、五十年的发展将较为艰难。遗传工程刚刚取得实质性进展，大放异彩的日子还在后头，它表现为两种趋势：首先，数量遗传工程具有独特的前景。就近几十年说，动物生产中，乳、肉、蛋、毛的增产还有赖于数量遗传工程的发展。对数量性状订出有效的计划，制定措施，有目的地予以改进，以便迅速提高这些产品的供应，这都有赖于数量遗传学理论的发展和电子计算机的应用。其次是基因转移将成为育种家的强大工具。动物的生产性状是受多基因控制的，暂时不可能同时进行大批基因的转移。但是，某些激素（如生长激素或促性腺激素）的基因有可能提前被选用。随着科技进步和分子遗传学的发展，基因转移肯定会在动物育种中得以成功应用。对基因表达的研究预示，在不久的将来，可以弄清基因启动子在染色体上的排列情况，这将有助于详细阐明表达内涵。

主要参考文献

- [1]孙勇如主编：《遗传学手册》，湖南科学技术出版社，1989，P508-523
- [2]门正明主编：《动物遗传学》，西北五省（区）高等农业院校通用教材，1989.
P195-214
- [3]王亚馥主编：《遗传学》，兰州大学出版社，1990，P545-548
- [4]门正明：“遗传工程与未来畜牧业发展”，《甘肃省遗传学会第四次代表大会论文汇编》，1990

微卫星DNA (Microsatellite DNA) 在遗传标记及基因图绘制中的应用

张 跃

(中国农业科学院畜牧研究所, 北京 100084)

现代遗传学的发展, 对绘制完整、准确的基因图(Gene Mapping)或标记出特定基因的要求越来越迫切。关于数量性状位点(Quantitative Trait Loci, QTL)概念的提出, 使广大畜牧工作者希望能拿到多态的标记物来帮助选育绝大多数为数量性状的生产性状。

在高等动物的基因组中有几十亿碱基对(在人类约3150000kb)。如要紧密标记某一基因, 则基因与标记物之间不应超过10CM(0.1 Morgan), 约1000kb。即标记物之间的距离不大于20CM^[1]。所以要准确绘制基因图至少需要150个均匀分布的标记。经过几十年的研究, 先后发现了多态蛋白及同功酶, 红细胞及白细胞抗原和RFLP及小卫星DNA(Minisatellite, 也叫Variant Number Tandem Repeat, VNTR)等标记物。在人类中已发现了大约3000个这些标记物^[2]。但其中大约90%的杂合度低于0.5, 而且分布不均。如高度多态的VNTR主要集中于染色体臂的端点^[3]。虽然利用这些标记物已标记出来了一些性状或疾病^{[4][5]}, 但对于多数性状和完整的基因图则要更多广泛分布的高杂合度标记物。

在真核生物的基因组中, 广泛分布着许多简单重复的DNA片段。他们一般每个重复单位为1-4个碱基, 重复数为10-20次左右。因卫星DNA, 小卫星DNA为重复序列的DNA, 所以人们把这类DNA序列称为微卫星DNA(Microsatellite DNA)。微卫星DNA广泛存在于真核生物中, 重复单位有A、AAN、AAAN、AC、TA、CATT等等^[6]。有报导在真核生物中平均每10kb中就存在一个简单重复的微卫星DNA^[7]。在这些微卫星DNA中出现频率最高的是(CA)_n。在酵母、人、小鼠、大马哈鱼中分别有大约: 500, 50000, 100000, 200000个(CA)_n拷贝^[8]。估计在真核生物中平均每30kb就有一个CA重复序列^[9]。在家畜中有用(CA)_n为探针与部分牛基因文库杂交(500bp插入片段), 约0.3%的克隆为阳性^[10]。即平均160kp中含一个(如果这个杂交可以代表基因组)。

微卫星DNA的多态主要产生于不同的重复数。其产生的机制与小卫星DNA一样可能是由于在减数分裂过程中的不平衡交换所致。也可能是由于其它机械性原因所致^[11]。这也解释了为什么一般来说一个微卫星DNA的重复数越高, 其等位基因数也越多, 下表为几个牛微卫星DNA的介绍^[12]。