

牦牛基因组和转录组研究进展

马志杰^{1,2,3,4}

1. 青海大学 畜牧兽医科学院, 西宁 810016;
2. 青海省畜牧兽医科学院, 西宁 810016;
3. 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;
4. 青海省牦牛工程技术研究中心, 西宁 810016)

摘要 为了解牦牛基因组和转录组研究现状,以“牦牛、基因组、转录组和高通量测序”为关键词,对2012—2018年的研究进展进行文献检索。研究发现:在牦牛基因组研究方面,已有研究对牦牛基因组进行了首次测序和重测序分析,构建了基因组“草图”和变异图谱,比较了家、野牦牛及与其他物种间全基因组水平上的异同,阐释了牦牛高原适应的遗传学机制,探究了牦牛的驯化和群体历史发展动态,初步揭示了牦牛与普通牛种间杂交渐渗状况,并对部分性状(如角、多肋性状)进行了全基因组关联分析和遗传机理揭示;在牦牛转录组研究方面,已有研究对牦牛睾丸、卵巢、心脏等多个组织器官及不同发育阶段的卵母细胞和胚胎细胞进行了转录组分析,发掘出一批潜在的与牦牛经济性状及一些生物学变化相关的差异表达基因。为推动牦牛分子育种进程,应进一步利用高通量测序技术获得牦牛大数据,继续完善牦牛全基因组结构。

关键词 牦牛; 基因组; 转录组; 高通量测序

中图分类号 S823.8⁺5

文章编号 1007-4333(2019)07-0079-08

文献标志码 A

Research progress of the genome and transcriptome of yak

MA Zhijie^{1,2,3,4}

1. Academy of Animal Science and Veterinary Medicine, Qinghai University, Xining 810016, China;
2. Qinghai Academy of Animal Science and Veterinary Medicine, Xining 810016, China;
3. College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling 712100, China;
4. Yak Engineering Technology Research Center in Qinghai Province, Xining 810016, China)

Abstract To investigate the progress of yak genome and transcriptome, literatures related to yak genome and transcriptome researches over 2012 – 2018 were summarized in this paper by using “yak, genome, transcriptome and high throughput sequencing” as keywords. The results showed: On the aspect of genome, the genome of yak was sequenced for the first time in 2012 and subsequently re-sequenced. The yak genome “sketch frame” and the corresponding genetic variations profile were constructed. The genome similarities and differences between the domestic yak, wild yak and other species were compared. The genetic mechanism of yak plateau adaptation was explained, and the domestication and demographic history of domestic yak were explored. The adaptation introgression between yak and cattle, and the genetic mechanism of some traits (i. e. horns and multi-ribs traits) in yak also were revealed. The whole genome association analysis in yak was used; On the aspect of yak transcriptome study, the transcriptional analysis of the testis, ovary and heart etc., as well as the oocyte and embryo cells of the yak were carried out to discover a number of potential differentially expressed genes (DEGs) related to the economic traits and some biological changes. Future work should focus on Big Data obtained by high throughput sequencing technology to assist yak molecular breeding.

Keywords yak; genome; transcriptome; high throughput sequencing

收稿日期: 2018-11-19

基金项目: 西部之光(中国科学院“西部青年学者”)项目(3-1); 青海省“高端创新人才千人计划”项目; 国家自然科学基金项目(31360267); 青海省高原牦牛研究开发中心能力建设项目(2017-GX-G06); 国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS-37)

第一作者: 马志杰, 副研究员, 主要从事动物遗传资源研究, E-mail: zhijiema@126.com

牦牛(*Bos grunniens*)生活在青藏高原及其毗邻的高山、亚高山地区,可供当地牧民奶、肉、毛等畜产品以及运输、燃料和役力,是高寒草地畜牧业生态系统中不可缺少的重要畜种之一,被誉为“高原之舟”,是宝贵的遗传基因库,具有极强的高原适应性和耐粗饲等特点^[1]。近年来,分子遗传学和测序技术的迅猛发展极大的促进了牦牛分子遗传学研究^[2-4]。高通量测序技术的兴起和引入,大大促进了牦牛基因组和转录组研究的步伐。自2012年牦牛全基因组序列测定发布后^[5],以基因组学、转录组学为代表的“组学”相关技术和方法逐步被应用到牦牛科学上,有关牦牛基因组和转录组研究的成果相继涌现^[6-32],并取得了诸多突破性的研究成果。目前,尚未见有关牦牛基因组和转录组研究概况的综述报道。因此,本研究对近6年来牦牛基因组和转录组研究的最新进展进行归纳总结,综述了大数据背景下基于高通量测序技术基础上的牦牛该研究领域现状及有待开展的研究工作,并对其前景进行展望,以期今后继续推进和开展牦牛组学及相关研究提供基础资料。

1 牦牛基因组研究

1.1 牦牛基因组测序及重测序分析

在牦牛全基因组研究中,Qiu等^[5]采用全基因组鸟枪法结合二代测序技术首次对母牦牛基因组进行了测定,测序深度为65倍,获得总长为2.657 Gb的基因组序列,contig和scaffold N50长度分别为20.4 Kb和1.4 Mb。该研究发现:牦牛与普通牛全基因组序列GC含量分布类似;基于5个组织样品转录组测序以及同源性、全基因组分析推测牦牛基因组中蛋白编码基因为22 282个;共鉴定出220万个杂合单核苷酸变异,其杂合率(0.89×10^{-3})是普通牛(0.59×10^{-3})的1.5倍;确定牦牛、普通牛、人和狗共有的同源基因家族13 810个,其中100个(包括170个基因)为牦牛所特有;推测牦牛和普通牛约在490万年前就已分化;在牦牛基因组中共鉴定出85个正向选择基因(Positive selected genes, PSGs)均与缺氧应激和能量代谢有关,包括2个重要的调控子(*Adam17*和*Arg2*)和1个靶基因(*Mmp3*)与缺氧功能有关,而5个重要基因(*Camk2b*、*Gcnt3*、*Hsd17b12*、*Whsc1*和*Glul*)在牦牛营养代谢通路中显示出正向选择信号。为探究家牦牛的驯化和群体历史发展动态,对13头野牦牛、48头未经选育的家

牦牛和11头经过严格选育的天祝白牦牛群体进行平均测序深度为6.7倍全基因组重测序表明^[6]:平均基因组覆盖率达98%,共检测到1 456万个高质量SNPs,其中76.4%的SNPs位于基因间区域;在与牦牛行为和驯化有关的209个基因中探测到较强的选择信号;推测家牦牛约在7 300年前由游牧民族经野牦牛驯化而来,且牦牛数量在3 600年前增长到驯化之初的6倍,群体驯化和扩张时期正好与早期人群在新石器时代早期和全新世晚期2个早期人群扩张的时间吻合,提示牦牛驯化对早期人类永久性征服青藏高原地区和随后的社会稳定发展起到了至关重要的作用。为探究家、野牦牛基因组水平上的遗传差异,Wang等^[7]对家、野牦牛各3头个体进行了全基因组重测序,获得平均5倍测序深度的数据量,以已公布的牦牛全基因组序列为参考基因组,进行家、野牦牛基因组比对分析鉴定出838万个SNPs(其中新发现的SNPs为714万个),383 241个插入/缺失,126 352个结构性变异;家牦牛相比野牦牛显示出较高的连锁不平衡,两者间具有较明显的遗传分化;家牦牛全基因组序列扫描发现1 000多个潜在的选择区域。此外,Zhang等^[8]基于14头野牦牛和65头家牦牛的全基因组序列,对拷贝数变异进行分析:共确定了总长为153 Mb(占牦牛基因组的5.7%)的2 634个拷贝数变异区域(Copy number variation regions, CNVRs),发现这些CNVRs包含了3 879个功能注释基因,其主要富集了与感官知觉和应激相关的基因;通过家、野牦牛的比较分析确定了121个具有差异的潜在CNVRs,这些区域包含与神经发育、繁殖、营养和能量代谢相关的基因;与CNVRs相重叠的许多基因在牦牛行为、生理特性和一些重要的经济性状方面起主要功能;发现85个CNVRs在高海拔与低海拔区域生存的家牦牛群体间具有显著差异,包含3个与低氧应激(即*MRP4*、*DCC*和*DEX1*)、6个与免疫防御(即*ULBP17*、*CIITA*、*CATHL1*、*BoLA-DQA2*、*BoLA-DQA3*和*BoLA-DQB*)相关的基因。Medugorac等^[9]采用全基因组重测序和高密度SNP定型方法,探究了蒙古牦牛中普通牛的渐渗杂交情况:在76头蒙古牦牛中发现了普通牛单倍型,提示蒙古牦牛至少在近1 500年和普通牛的持续混群生存过程中,获得了普通牛祖先基因组约1.3%的遗传信息;其基因组中渐渗区域主要包含与神经发育、谷氨酸代谢和神经传递相关的基因;同时发现牦牛角的有无

是由一个起源于蒙古 Turano 牛的新突变引起。为探究牦牛角性状的遗传机理, Liang 等^[10]对 10 头有角和 10 头无角牦牛进行全基因组测序和关联分析, 将无角性状定位到一个 200 Kb 包含 3 个基因且受到人工选择的区间, 并推测其中某个基因表达量的变化可能引起角部发育停止。最近, Lan 等^[11]对具有 15 和 14 条肋骨数的四川省金川牦牛各 3 头个体进行重测序分析, 探究了其遗传多样性、系统发育和选择情况: 共确定了 7 693 689 个单核苷酸多态位点, 表明金川牦牛与其他家牦牛群体相比遗传差异较大, 无显著的基因交流, 驯化和选择强度较高, 推测其可能在 6 000 年前驯化, 种群生长历史动态与其他家、野牦牛相似, 但更接近野牦牛; 拥有 339 个特有的正向选择基因, 而这些正向选择基因大多与生理节律、组蛋白和品种的优良生产特性相关。Xie 等^[12]评估了 59 头家牦牛和 13 头野牦牛基因组有害突变情况, 共确定了 3 187 个影响家牦牛 2 586 个基因的有害突变位点和 2 067 个影响野牦牛 1 701 个基因的有害突变位点, 发现家牦牛相比野牦牛其有害突变负荷显著增加, 特有的有害突变携带基因被发现与嗅觉感知和化学刺激检测有关, 涉及感觉、骨骼发育、神经和免疫系统的孟德尔遗传病相关基因 36 个。

因此, 牦牛全基因组测序研究当前取得的进展可概括为: 1) 对牦牛基因组进行了首次测序, 绘制了牦牛基因组“草图”, 初步揭示了其基因组结构特点, 阐释了牦牛高原适应的遗传学机制; 2) 基于重测序结果探究了牦牛的驯化和群体历史发展动态, 初步构建了牦牛全基因组变异图谱; 3) 初步探究了牦牛与黄牛种间杂交的渐渗状况; 4) 对牦牛部分性状(如角性状)进行了 GWAS 关联分析; 5) 初步揭示了牦牛多肋性状的遗传特性。

1.2 牦牛基因组信息后续再挖掘

基于已公布的牦牛基因组全序列, 已有研究进行了进一步基因组信息挖掘, 为深入了解牦牛基因组结构和特征提供了必要的补充信息。宋乔乔^[13]对牦牛基因组序列密码子使用偏好性进行了分析, 发现牦牛基因组中有 18 个主要偏爱密码子和 5 个高频密码子。Ma 等^[14]对牦牛基因组中微卫星丰度进行了综合分析, 揭示: 6 种类型的微卫星在牦牛基因组中分布不均一, 不同种类的微卫星其重复次数各不相同; 15 种微卫星重复种类在牦牛基因组中分布频率较高。Qi 等^[15]比较分析了牛科 6 个物种(即

牦牛、普通牛、水牛、绵羊、山羊和藏羚羊)基因组中 SSRs 标记的数目、相对丰度和密度及 GC 含量, 结果表明: 在 6 个物种中单核苷酸重复的微卫星最为丰富, 其次为双核苷酸、三核苷酸、五核苷酸、四核苷酸和六核苷酸重复的微卫星; 在普通牛、绵羊和山羊之间, 所有的染色体 SSR 数目与染色体长度正相关, 而与 GC 含量显著负相关。此外, 赵芳芳^[16]也对牦牛基因组 SSRs 序列特征和多态 SSRs 标记进行群体遗传分析, 筛选出麦洼牦牛具有多态的 77 对微卫星引物并应用于该品种的群体遗传研究。Wu 等^[17]探究了包括牦牛在内的 8 个牛属物种间系统发育关系和进化历史, 发现牛属物种间存在明显的基因渐渗, 大多与环境适应性基因相关。

上述研究有助于更深层次地揭示牦牛基因组所蕴含的遗传信息, 加深对牦牛基因组结构和特征的认识和了解, 也有助于探明牦牛等物种的适应性机理、系统发育关系及分类学地位等问题。

2 牦牛转录组研究

2.1 睾丸

F1 代公犏牛的不育问题目前仍是牦牛研究领域的一大难题。为探究犏牛雄性不育的机理, 在转录组水平上, 曾贤彬等^[18]基于 RNA-Seq 技术对成年犏牛和牦牛各 5 头个体的 2 个睾丸组织混合样进行测序和比较分析, 结果表明: 犏牛、牦牛睾丸组织中分别有 17 784 和 18 529 个基因表达, 在犏牛中表达显著上调和下调的基因分别有 5 000 和 4 089 个; 犏牛睾丸组织中睾酮合成相关基因和抑制素基因表达均显著上调; *Syce3*、*Fkbp6* 和 *Dmrt7* 等基因在犏牛睾丸组织中极显著表达下调, 而 *Spo11* 和 *Dmc1* 基因在犏牛睾丸中表达下调; 参与高度浓缩细胞核的 *Tnp2*、*Hmgb4* 和 *H1fnt* 等相关基因几乎不表达, 其调控表达基因 *Crem*、*GRTH/DDX25* 等极显著表达下调; 促凋亡相关基因(如 *p53*、*TNF- α* 、*Trail*、*Bmp8b*、*Bax*、*Caspase-3*、*Caspase-6* 和 *Caspase-7*)表达均显著上调, 而抑凋亡基因(如 *survivin*、*Bcl-2* 等)显著下调。Cai 等^[19]对 12 月龄的 3 头牦牛和 3 头犏牛睾丸组织进行转录组测序和比较分析: 共在犏牛转录组谱中鉴定出 2 960 个差异表达的基因(Differentially expressed genes, DEGs), 其中 679 个上调, 2 281 个下调, 基因富集分析显示包含大量与犏牛雄性不育相关的 DEGs, 与精子成分相关的基因在犏牛中也下调; *Wnt/b-*

catenin 信号通路参与了 3 种重要的富集通路, *Wnt3a*、*PP2A*、*TCF/LEF-1* 的下调可能导致犏牛精原细胞的分化阻滞。Xu 等^[20]对 12 月龄的 3 头牦牛和 3 头犏牛 miRNAs 进行鉴定和比较分析:共鉴定出 50 个差异表达的已知 miRNA 和 11 个新的 miRNAs;确定了 13 个差异表达的已知 miRNA 的 50 个假定靶标和 6 个差异表达的新的 miRNAs 的 30 个假定靶标。Wang 等^[21]也探究了牦牛、普通牛和犏牛各 3 头成年个体睾丸中 miRNA 和 piRNA 在精子发生中的作用,在普通牛和犏牛、普通牛和牦牛以及牦牛和犏牛的比较分析中分别获得 119、14 和 6 个差异表达的 miRNA 和 873、1 065 和 1 158 个差异表达的 piRNA,提示在犏牛中非编码 RNA 的表达调控可能与其精子发生有一定关联。

上述研究探究了牦牛、普通牛和犏牛睾丸组织转录组表达谱特征和差异,对与激素调节、精子发生、精原细胞分化及细胞凋亡等相关基因或非编码 RNA 的表达差异以及非编码 RNA 的靶基因进行通路和基因富集分析,找到在 3 个物种睾丸组织间存在一些差异及可能与犏牛雄性不育相关的基因和非编码 RNA,为更好地了解犏牛生精障碍的原因,揭示犏牛雄性不育机理提供了基础信息。

2.2 卵巢

卵巢是雌性哺乳动物重要的生殖器官,具有提供卵母细胞、分泌生殖激素以及维持发情周期等功能,与雌性动物的繁殖能力密切相关。兰道亮等^[22]基于 RNA-Seq 技术对牦牛卵巢进行转录组测序分析发现:16 992 个牦牛表达基因,其中 3 734 个基因存在不同类型的可变剪接;7 340 个基因的 5' 或 3' 端在原有基因组的位置基础上发生了延伸,在发现的 6 321 个新转录本中,预测 2 267 个新转录本具有编码蛋白能力;新转录本 GO 分类注释显示与繁殖性状相关的新转录本最多。为进一步了解牦牛发情期卵巢的分子机制,对牦牛和黄牛发情期卵巢进行 RNA-seq 测序比较分析,共筛选出 1 307 个差异表达基因,其中:661 个基因表达量上调,646 个基因表达量下调;GO 分类注释显示差异基因与细胞粘附、激素调控等生物学过程存在密切关联;KEGG 通路分析显示补体和凝血级联通路的富集水平最高,其次为细胞色素 P450 相关通路,昼夜节律等一些新型通路也表现出显著富集^[23]。

上述研究通过对牦牛、黄牛卵巢的 RNA-seq 测序和比较分析,描绘了牦牛、黄牛卵巢转录组图谱及

差异表达基因和转录本情况,为深入了解牦牛繁殖机能提供了基础数据。

2.3 肺脏

肺脏是动物呼吸系统中重要的功能器官。在高海拔低氧环境中,肺组织通过一系列的生理变化使动物机体适应外界缺氧环境而得以生存。为探究牦牛高原适应的遗传机理,杨琦玥等^[24]对牦牛和普通牛肺脏进行了 RNA-Seq 测序和比较分析:发现 7 059 个新转录本,预测其中 2 795 个新转录本具有编码蛋白的能力;与黄牛肺脏转录组相比,在牦牛肺脏组织中共筛选出 DEGs 1 618 个,其中 1 037 个基因表现为上调,581 个表现为下调,39 个为牦牛肺脏正向选择基因^[25]。此外,Tang 等^[26]对高、低海拔生存的牦牛/普通牛、鸡、猪、绵羊、山羊的 6 种组织(即心脏、肾脏、肝脏、肺脏、骨骼肌和脾脏)进行 RNA-Seq 测序和比较分析,从 180 个样品共获得 909.6 Gb 的高质量数据,其中:74.6% 的读数可比对到各自的参考基因组上,每个物种平均 61.2% 被注释的蛋白编码基因显示出 FPKM 表达值 >0.5 ;牦牛和普通牛的 6 种组织中发现 2 005 个 DEGs,肾脏在 5 种脊椎动物中具有最高的 DEGs($\sim 2 097$ 个);分析显示亲缘关系较近物种相同的差异表达基因更多,5 种脊椎动物间差异表达基因的富集分析表明差异表达均与低氧、心血管系统、生物量生产及免疫应激等物种高原适应有关;核苷酸比对和基因表达所描述的拓扑关系呈现出一致性,提示在表达或选择性剪接模式上,组织和物种明显比海拔高度占更高比重。

上述研究对高、低海拔生存的牦牛和普通牛等物种肺脏进行转录组测序和比较分析,描绘了动物肺脏转录组图谱,分析了不同海拔生存的物种间差异表达基因及转录本等信息,初步揭示了牦牛等物种在高原适应性等方面的差异及适应性进化分子机理。

2.4 肝脏

肝脏是动物体内主要的代谢功能器官,在身体里具去氧化、储存肝糖和合成蛋白质等作用。为探究镉胁迫下牦牛肝脏组织转录组特征,刘祥军^[27]以 5—6 月龄的大通牦牛为研究对象,通过对饲喂 3 mg/mL 氯化镉溶液的试验组和空白组牦牛肝脏组织进行测序和基因差异性分析,共筛选到 DEGs 16 029 个,表达差异显著的基因 384 个,其中 129 个基因表达水平明显上调,255 个基因表达水平下

调。该研究初步分析了镉对牦牛机体的毒害作用,对进一步探究牦牛肉食用安全具有重要意义。

2.5 乳腺

牦牛奶是牦牛的主要畜产品之一,其在蛋白质、脂肪和热量等方面优于普通牛奶,但牦牛产奶量相比其他奶牛要低。为探究不同生理状态下牦牛乳腺发育的分子机制,Fan等^[28]对3头干乳期和2头哺乳期牦牛的乳房组织进行了RNA-seq测序分析:共检测到DEGs 360个;与哺乳期相比,干乳期牦牛乳腺组织中有192个基因表达上调,168个基因表达下调;GO分析表明最丰富的条目与蛋白质结合、免疫系统等功能相关,KEGG分析表明差异表达的基因主要集中在HIPPO信号转导、胰岛素信号转导、类固醇生物合成。该研究发现一些牦牛乳腺不同生理期DEGs信息,并对其进行了本体和代谢通路分析,对今后提高牦牛产奶量和优化乳成分具有指导意义。

2.6 卵母细胞和胚胎细胞

卵母细胞是雌性动物的重要生殖细胞,其发育和成熟程度决定着个体是否具有有良好的繁殖及生产能力。在牦牛卵母细胞转录组分析中,兰道亮等^[29]对MII期牦牛卵母细胞RNA进行了分析:共获得7348个新转录本,GO分类注释显示共有13795个基因参与了生物过程、细胞组分及分子功能,有333、134及113个GO类别分别在上述3大类中得到富集;KEGG通路分析显示共有13496个基因参与了258条通路,其中101条通路得到有效富集。

此外,为探明不同发育阶段牦牛胚胎的转录组差异,字向东等^[30]对IVF生产的牦牛2-细胞、4-细胞、8-细胞、桑椹胚和囊胚5个发育阶段的胚胎进行RNA-Seq转录组测序比较分析,发现:胚胎转录本中转录起始区域可变剪接和转录结束区域可变剪接所占比例最大;在2-细胞和4-细胞胚胎、4-细胞和8-细胞胚胎、8-细胞胚胎和桑椹胚以及桑椹胚和囊胚比对中分别筛选到6922、7601、8071和10555个DEGs;GO分析表明4个发育阶段的DEGs归类注释都涉及生物过程、细胞组分和分子功能3大类62个二级条目;KEGG通路分析表明牦牛早期胚胎发育过程中DEGs富集的主要通路也有时序特异性;牦牛胚胎和犏牛胚胎在2、4、8细胞、桑椹胚和囊胚阶段分别有2960、7287、6420、7724和10417个DEGs,导致GO条目和代谢通路差异较大^[31]。为探究玻璃化冷冻对牦牛囊胚基因表达谱的影响,

蒲思颖等^[32]利用RNA-seq技术分析了囊胚玻璃化冷冻前后转录组变化,结果发现:在冷冻前后牦牛囊胚中分别检测到9827和13567个转录本;共筛选出11174个DEGs,其中有7037个在冻融囊胚上调,4137个下调;有10538个DEGs显著富集到479条GO条目上,共涉及318条通路,其中在真核生物的核糖体合成、剪接体和神经活性配体-受体互作等8条通路显著富集。

上述研究通过对牦牛卵母细胞、胚胎细胞转录组测序和比较分析,初步揭示牦牛卵母细胞、胚胎细胞不同发育阶段差异表达基因状况,为探明牦牛发育分子调控机制及完善其卵母细胞、胚胎体外培养技术奠定了基础。

3 展望

综上所述,2012—2018年在牦牛基因组和转录组研究方面已开展了大量的工作,产生了具有重要参考价值的研究成果。在综合分析该领域研究现状的基础上,建议今后有待继续深入和推进的研究方向如下:

1)牦牛全基因组结构的继续完善和提高。当前公布的牦牛基因组全序列,其组装和信息注释是以近缘种普通牛基因组序列为参考基因组进行的,其组装与注释还不完善。随着三代测序平台(如PacBio平台)以及纳米孔测序技术(Nanopore technology)的兴起和发展,需要进一步打造牦牛基因组序列升级版,为牦牛全基因组群体遗传分析等提供更完善的参考基因组。

2)牦牛群体基因组学研究。尽管当前已有基于重测序技术的牦牛群体基因组学研究报道^[6-12],但主要针对中国、蒙古国境内的牦牛品种/群体,且研究个体数量相对较少、测序深度较低,缺乏系统性,特别是针对野牦牛的群体基因组研究更少。因此,基于重测序技术和全基因组信息分析整个中亚高地家、野牦牛的群体基因组学将是今后的研究重点之一,该研究可为进一步探明牦牛的起源驯化、进化历史、分化状况、迁徙路线、遗传多样性、群体遗传结构等提供依据。

3)牦牛的进化历史研究有待继续深入。已有牦牛基因组重测序研究为其进化历史研究提供了较为翔实的数据信息^[6],但仍存在诸多问题,在家、野牦牛基因组重测序研究中,除野牦牛的样本量很少外,还未收集到牦牛化石DNA。家牦牛的野生祖先为

野牦牛,但野牦牛的系统发育地位及群体历史发展如何?家牦牛与野牦牛是何种进化关系?通过后续大样本收集策略以及古DNA提取技术和全基因组测序技术的结合,可深入研究牦牛的进化历史。

4)牦牛功能基因组学研究有待加强。当前,牦牛基因组和转录组研究的开展,发掘出一些与牦牛种质特性、经济性状相关联的基因和转录本,并发现一批SNPs位点和起调控作用的非编码RNA,这些遗传信息可成为加速牦牛品种培育和改良以及奶、肉畜产品遗传性能提高的巨大资源库。因此,如何充分利用这些资源库信息,推动牦牛功能基因组学研究步伐,将其应用于牦牛育种与生产实践,也是今后的研究趋势和重点。

5)牦牛转录组研究有待继续深入。当前,牦牛转录组研究主要涉及了其睾丸、卵巢、肺、肝、心脏、脾、肌肉、乳腺等组织器官和不同发育阶段的卵母细胞、胚胎细胞,其研究的广度和深度相比普通牛、猪等家畜还有一定差距。因此,有必要在当前研究基础上,继续推进牦牛转录组研究,为牦牛经济性状功能基因挖掘、定位和功能分析以及一些生物学变化的主控因素寻找提供基础信息。

6)牦牛多组学的联合研究有待开展。生命科学已进入多组学时代,然而,当前牦牛研究主要还集中于单独组学分析的运用^[6-12,17-32]。因此,今后可将多组学、表观遗传学、结构生物学的信息加以整合,更加合理地将这些分析内容紧密联系起来,提高数据的利用率,为今后研究提供新思路。

牦牛遗传学研究的终极目标是探究其遗传变异的机理,应用于新品种培育和改良以及提高畜产品质量与数量。21世纪以来,Illumina、SOLID、Roche 454、Ion Torrent、Pacific Biosciences 和纳米孔测序为平台的高通量测序技术相继诞生并迅速发展,在很短的时间内便在基因组学和转录组学研究中得到了广泛应用^[33]。牦牛作为区域物种,其基因组、转录组研究尚处于起步发展阶段。因此,可借鉴人、普通牛、猪等其他哺乳动物在组学研究方面的思路,借助新一代高通量测序技术和生物信息学分析方法,采用多组学联合运用的研究策略,立足牦牛科研实际,在深入挖掘牦牛基因组、转录组、代谢组、蛋白组信息基础上,加强其功能基因组研究步伐。尽管牦牛组学研究在群体设计、表型测定、系统学研究方面仍面临诸多挑战,然而,随着高通量测序技术的突飞猛进,带动牦牛泛基因组研究的迅猛发展,以及多组

学科联合运用的牦牛系统遗传学发展,将有助于探明牦牛表型与基因型的因果关系,揭示复杂性状的遗传机理,推动牦牛分子育种进程,为牦牛遗传资源的合理保护和开发利用等提供理论和实践指导。

参考文献 References

- [1] Wiener G, Han J L, Long R J. *The Yak* [M]. 2nd ed. Bangkok: Regional Office for Asia and the Pacific of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003
- [2] 马志杰, 钟金城, 韩建林, 徐惊涛, 刘仲娜, 白文林. 牦牛分子遗传多样性研究进展[J]. 遗传, 2013, 35(2): 151-160
Ma Z J, Zhong J C, Han J L, Xu J T, Liu Z N, Bai W L. Research progress on molecular genetic diversity of the yak (*Bos grunniens*) [J]. *Hereditas*, 2013, 35(2): 151-160 (in Chinese)
- [3] 马志杰. 牦牛线粒体基因组研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2014, 19(3): 154-161
Ma Z J. Research progress of the yak (*Bos grunniens*) mitochondrial genome [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2014, 19(3): 154-161 (in Chinese)
- [4] 马志杰. 牦牛 Y 染色体分子遗传学研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2016, 21(2): 93-99
Ma Z J. Research progress on molecular genetics of the yak Y chromosome [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2016, 21(2): 93-99 (in Chinese)
- [5] Qiu Q, Zhang G J, Ma T, Qian W B, Wang J Y, Ye Z Q, Cao C, Hu Q J, Kim J, Larkin D M, Auvin L, Capitanu B, Ma J, Lewin H A, Qian X J, Lang Y S, Zhou R, Wang L Z, Wang K, Xia J Q, Liao S G, Pan S K, Lu X, Hou H L, Wang Y, Zang X T, Yin Y, Ma H, Zhang J, Wang Z F, Zhang Y M, Zhang D W, Yonezawa T, Hasegawa M, Zhong Y, Liu W B, Zhang Y, Huang Z Y, Zhang S X, Long R J, Yang H M, Wang J, Lenstra J A, Cooper D N, Wu Y, Wang J, Shi P, Wang J, Liu J Q. The yak genome and adaptation to life at high altitude [J]. *Nature Genetics*, 2012, 44(8): 946-949
- [6] Qiu Q, Wang L Z, Wang K, Yang Y Z, Ma T, Wang Z F, Zhang X, Ni Z Q, Hou F J, Long R J, Abbott R, Lenstra J, Liu J Q. Yak whole-genome resequencing reveals domestication signatures and prehistoric population expansions [J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 10283
- [7] Wang K, Hu Q J, Ma H, Wang L Z, Yang Y Z, Luo W C, Qiu Q. Genome-wide variation within and between wild and domestic yak [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, 14(4): 794-801

- [8] Zhang X, Wang K, Wang L Z, Yang Y Z, Ni Z Q, Xie X Y, Shao X M, Han J, Wan D S, Qiu Q. Genome-wide patterns of copy number variation in the Chinese yak genome[J]. *BMC Genomics*, 2016, 17: 379
- [9] Medugorac I, Graf A, Grohs C, Rothhammer S, Zagdsuren Y, Gladyr E, Zinovieva N, Barbieri J, Seichter D, Russ I, Eggen A, Hellenthal G, Brem G, Blum H, Krebs S, Capitan A. Whole-genome analysis of introgressive hybridization and characterization of the bovine legacy of Mongolian yaks[J]. *Nature Genetics*, 2017, 49(3): 470-475
- [10] Liang C N, Wang L Z, Wu X Y, Wang K, Ding X Z, Wang M C, Chu M, Xie X Y, Qiu Q, Yan P. Genome-wide association study identifies loci for the polled phenotype in yak[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0158642
- [11] Lan D L, Xiong X R, Mipam T D, Fu C X, Li Q, Ai Y, Hou D C, Chai Z X, Zhong J C, Li J. Genetic diversity, molecular phylogeny and selection evidence of Jinchuan yak revealed by whole-genome resequencing[J]. *G3-Genes/Genomes/Genetics*, 2018, 8(3): 945-952
- [12] Xie X, Yang Y, Ren Q, Ding X, Bao P, Yan B, Yan X, Han J, Yan P, Qiu Q. Accumulation of deleterious mutations in the domestic yak genome[J]. *Animal Genetics*, 2018, 49(5): 384-392
- [13] 宋乔乔. 牦牛和普通牛基因组的密码子使用分析[D]. 成都: 西南民族大学. 2015
Song Q Q. Analysis of the use of codons in yak and cattle genomes [D]. Chengdu: Southwest University for Nationalities. 2015 (in Chinese)
- [14] Ma Z J. Genome-wide characterization of perfect microsatellites in yak (*Bos grunniens*)[J]. *Genetica*, 2015, 143(4): 515-520
- [15] Qi W H, Jiang X M, Du L M, Xiao G S, Hu T Z, Yue B S, Quan Q M. Genome-wide survey and analysis of microsatellite sequences in *Bovidae* species[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0133667
- [16] 赵芳芳. 牦牛基因组微卫星挖掘与筛选验证[D]. 绵阳: 西南科技大学. 2015
Zhao F F. Microsatellite mining and screening verification of yak genome[D]. Mianyang, Southwest University of Science and Technology. 2015 (in Chinese)
- [17] Wu D D, Ding X D, Wang S, Wójcik J M, Zhang Y, Tokarska M, Li Y, Wang M S, Faruque O, Nielsen R, Zhang Q, Zhang Y P. Pervasive introgression facilitated domestication and adaptation in the *Bos* species complex[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2018, 2(7): 1139-1145
- [18] 曾贤彬, 柴志欣, 王永, 马志杰, 杨琴, 宋乔乔, 钟金城. 牦牛精子发生阻滞的比较转录组研究[J]. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44(6): 584-601
- Zeng X B, Cai Z X, Wang Y, Ma Z J, Yang Q, Song Q Q, Zhong J C. Comparative transcriptome analysis of spermatogenesis arrest in cattle-yak[J]. *Science China: Life Sciences*, 2014, 44(6): 584-601 (in Chinese)
- [19] Cai X, Yu S M, Mipam T, Yang F, Zhao W S, Liu W J, Cao S Z, Shen L H, Zhao F F, Sun L, Xu C F, Wu S X. Comparative analysis of testis transcriptomes associated with male infertility in cattle-yak[J]. *Theriogenology*, 2017, 88: 28-42
- [20] Xu C F, Wu S X, Zhao W S, Mipam T, Liu J B, Liu W J, Yi C P, Shah M A, Yu S M, Cai X. Differentially expressed microRNAs between cattle-yak and yak testis[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 592
- [21] Wang H, Zhong J C, Chai Z X, Zhu J, Xin J W. Comparative expression profile of microRNAs and piRNAs in three ruminant species testes using next-generation sequencing[J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2018, 53(4): 963-970
- [22] 兰道亮, 熊显荣, 位艳丽, 徐通, 钟金城, 字向东, 王永, 李键. 基于 RNA-Seq 高通量测序技术的牦牛卵巢转录组研究: 进一步完善牦牛基因结构及挖掘与繁殖相关新基因[J]. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44(3): 307-317
Lan D L, Xiong X R, Wei Y L, Xu T, Zhong J C, Zi X D, Wang Y, Li J. RNA-Seq analysis of yak ovary: Improving yak gene structure information and mining reproduction-related genes [J]. *Science China: Life Sciences*, 2014, 44(3): 307-317 (in Chinese)
- [23] 兰道亮, 熊显荣, 柴志欣, 艾鹭, 黄偲, 李键. 牦牛发情期卵巢比较转录组学研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2016, 47(9): 1830-1839
Lan D L, Xiong X R, Chai Z X, Ai Y, Huang C, Li J. Comparative transcriptome analysis between yak and cattle estrus ovary[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2016, 47(9): 1830-1839 (in Chinese)
- [24] 杨琦玥, 陈通, 兰道亮, 熊显荣, 侯定超, 李键. 牦牛肺转录组图谱绘制及特有正选择遗传进化基因探究[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(7): 1202-1211
Yang Q Y, Chen T, Lan D L, Xiong X R, Hou D C, Li J. Mapping of transcriptome and identification of positively selected genes in lung in yak[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2017, 48(7): 1202-1211 (in Chinese)
- [25] Lan D L, Xiong X R, Ji W H, Li J, Mipam T D, Ai Y, Chai Z X. Transcriptome profile and unique genetic evolution of positively selected genes in yak lungs[J]. *Genetica*, 2018, 146(2): 151-160
- [26] Tang Q Z, Gu Y R, Zhou X M, Jin L, Guan J Q, Liu R, Li J,

- Long K R, Tian S L, Che T D, Hu S L, Liang Y, Yang X M, Tao X, Zhong Z J, Wang G S, Chen X H, Li D Y, Ma J D, Wang X, Mai M M, Jiang A N, Luo X L, Lv X, Gladyshev V N, Li X W, Li M Z. Comparative transcriptomics of 5 high-altitude vertebrates and their low-altitude relatives[J]. *GigaScience*, 2017, 6(12):1-9
- [27] 刘祥军. 镉胁迫下牦牛肝脏组织转录组学及蛋白组学研究[D]. 西宁:青海大学, 2017
- Liu X J. Study on transcriptome and proteomics of yak liver under cadmium stress[D]. Xining: Qinghai University, 2017 (in Chinese)
- [28] Fan J F, Luo Y Z, Yu S J, Cui Y, Xu G Q, Wang L B, Pan Y Y, He H H. Transcriptional profiling of two different physiological states of the yak mammary gland using RNA sequencing[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7):e0201628 (in Chinese)
- [29] 兰道亮, 熊显荣, 林宝山, 陈亚冰, 胡敏, 苏小珊, 李键. 基于微量RNA高通量测序技术的牦牛MⅡ期卵母细胞转录组研究[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(5):722-732
- Lan D L, Xiong X R, Lin B S, Chen Y B, Hu M, Su X S, Li J. Transcriptome analysis of yak metaphase II (MⅡ) oocytes by a micro-transcriptome sequencing method[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2014, 45(5):722-732 (in Chinese)
- [30] 字向东, 罗斌, 夏威夷, 郑玉才, 熊显荣, 李键, 钟金城, 朱江江, 张正帆. 基于RNA-Seq技术的牦牛体外受精胚胎发育转录组分析[J]. 中国农业科学, 2018, 51(8):1577-1589
- Zi X D, Luo B, Xia W, Zheng Y C, Xiong X R, Li J, Zhong J C, Zhu J J, Zhang Z F. Transcriptomic analysis of IVF embryonic development in the yak (*Bos grunniens*) via RNA-Seq[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(8):1577-1589 (in Chinese)
- [31] Zi X D, Liu S, Xia W, Xiong X R, Luo B. Transcriptional profiles of crossbred embryos derived from yak oocytes *in vitro* fertilized with cattle sperm[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1):11571
- [32] 蒲思颖, 郑杰, 杨远潇, 王琴, 杨绕芬, 字向东. 牦牛新鲜囊胚与玻璃化冻融囊胚转录组的比较分析[J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(4):709-717
- Pu S Y, Zheng J, Yang Y X, Wang Q, Yang R F, Zi X D. Comparative transcriptome analysis between fresh and vitrified-thawed blastocysts of the yak (*Bos grunniens*) [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2018, 49(4):709-717 (in Chinese)
- [33] E. 科佩莱恩, J. 图梅拉, P. 萨默沃 著. 陈建国, 张海谋 译. RNA-seq 数据分析实用方法[M]. 北京:科学出版社, 2018
- Copelline E, Tumela J, Summero P, Chen J G, Zhang H M. *RNA-seq Practical Method of Data Analysis* [M]. Beijing: Science Press, 2018 (in Chinese)

责任编辑: 杨爱东