

湖羊育种实现“芯”突破

◎本报记者 颜满斌 通讯员 吕玲娇 闻晓奥

日前，兰州大学“华羊芯”湖羊高性能基因组育种芯片在“2023羊业发展高级研讨会”上发布。“华羊芯”研制项目组历时10余年，将湖羊从南方引入北方，完成了湖羊的风土驯化和品种育种工作，建立了适用于我国绵羊育种、具有完全自主知识产权的基因组育种技术体系。

“湖羊北养”须解决系列问题

随着国家草原生态保护力度的加大，舍饲养羊的比重日益增加。“湖羊繁殖力高、生存适应性强，非常适合大规模舍饲。”项目组负责人、兰州大学教授王维民介绍，湖羊一般两年可生3胎，每胎平均生2至3只，是当前我国舍饲养羊的首选品种，也是目前市场占有率最高的绵羊品种。突出的优势让项目组决定把湖羊引入西北。

经过两年的适应性观察，项目组发现，湖羊的生长速度、繁殖率、生理生化等各项指标都证明其适合在西北地区大规模舍饲。“引进来只是第一步。后续我们还要保持品种的性能优势，甚至通过持续选育，让湖羊比在原产地的性能更好。”王维民说，项目组意识到要通过育种芯片的开发，进一步实现基因的选优去劣，选出好种羊、产出好羊羔，才能在“湖羊北养”的过程中掌握主动权。

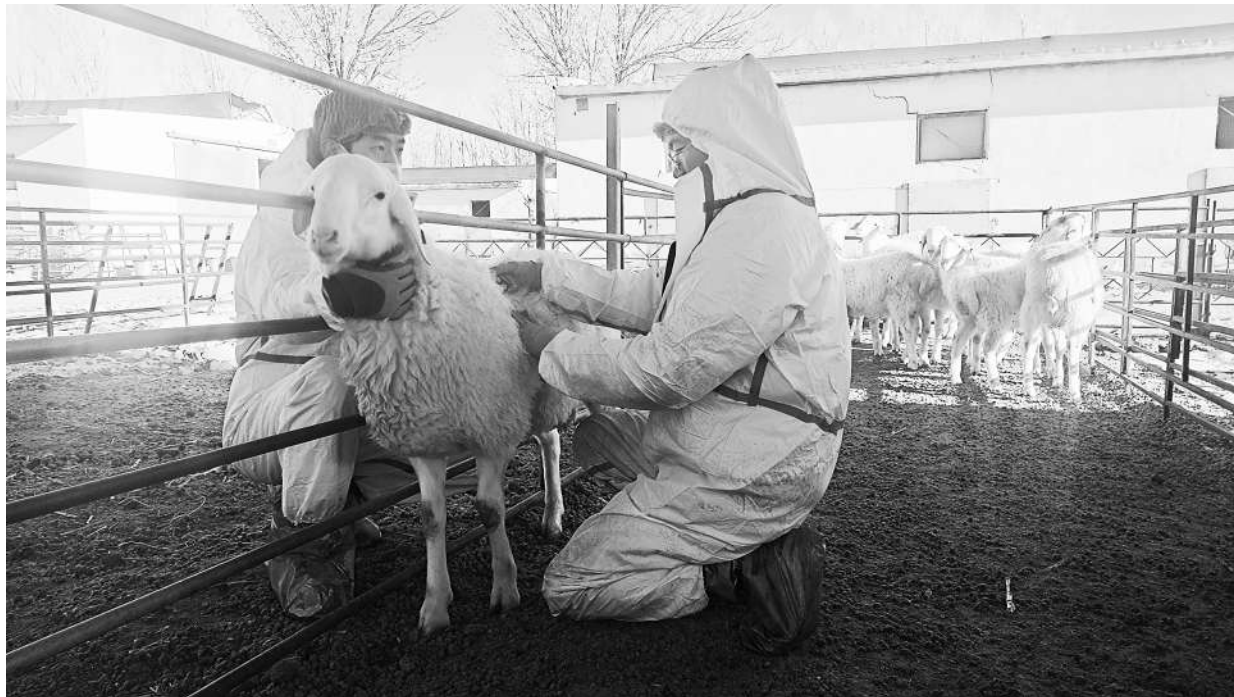
2014年，项目组的育种研究步入正轨。科学选育要有准确的测定数据作支撑。因此，首先要开展性能测定、遗传评估。前期，项目组就建立起了万级规模的具有精准表型记录和基因组遗传变异信息的基因组选择参考群。

要提升湖羊育种的准确性和效率，还必须在技术层面实现突破。从表型组测定技术到分子标记辅助选择技术，再到基因组选择技术，项目组在育种技术方面的研究不断迭代更新。其中，基因组选择技术是当前国际上科学育种的核心技术。该技术能够实现早选、准选，可以极大提升育种效率。育种芯片正是利用基因组选择技术开展育种工作的关键工具之一。

打造更具性价比的中国“芯”

目前，国内外的羊基因芯片有固相芯片和液相芯片两种，均是基于碱基互补杂交特性，以羊的基因位点设计探针来检测羊的基因组信息。“固相芯片以载玻片为载体放置羊的基因位点，就像把棋子放置在棋盘上。液相芯片则是以混合溶液为载体，把羊的基因位点放置在液体中。”项目组成员、兰州大学畜牧专业博士张煜坤介绍。

固相芯片的生产制造技术一直被国外垄断，价格高昂。有了庞大的数据库，为什么不能制造中国人自己的育



项目组成员在民测测定中心工作。

受访者供图

种芯片？项目组决定转换思路，着手制造中国人自己的湖羊育种液相芯片。

根据对上万只湖羊基因组数据的系统分析，项目组逐步破译了湖羊的基因组遗传密码，解析出优质基因与特定性状的调控关系及其遗传规律。科研人员从羊的血液、毛、组织等样品中提取DNA，然后放入液相芯片体系。这些DNA样品中的目标区域与探针相结合后，就可以进行基因序列检测，确定重要遗传位点的基因型信息。

实际上，项目组解锁的并不仅仅在于育种芯片本身，而是与芯片配套的遗传评估技术。遗传评估是指用不同信息来源的资料，对个体的遗传价值所进行的评价。即羊只如被选为种羊，便要评价它对后代的遗传贡献值。“我们不仅要利用育种芯片选出具有优良基因的羊，还要评估它的基因表现如何，能不能稳定遗传给后代。这些才是我们要为用户提供的核心信息。”王维民说。

如何降低成本也是育种芯片研发过程中不可忽视的问题。目前，国外进口的固相芯片市场价格单价在300元左右，而项目组研发的“华羊芯”液相芯片的价格仅为国外固相芯片的一半左右。除了价格亲民，这款育种芯片的准确性也很突出。在盲测阶段，团队收集了验证羊场中羊只的血液，并通过该育种芯片进行了测定及遗传评估，根据结果选出了最好的种羊。“我们盲测选出的种羊，和场里实际育种表现最好的羊是一致的。”王维民透露，现在这款“华羊芯”育种芯片的市场订单量已达69000张。

为湖羊种业振兴贡献更多力量

种业是国家的基础性产业。为了推动联合育种，项目组扎根西北，建立起联合育种体系和以市场为导向、企业为主体、产学研用紧密融合的育种模式，将科技成果转化经济效益。项目组联合了数十家科研单位和50余家种业企业，形成了产学研用紧密结合的选育扩繁利用体系，累计推广湖羊种羊65万只，扩繁影响180万只。现在项目组已将湖羊推广到甘肃、新疆等北方8省区的500余家企业和合作社。

截至目前，项目组与合作单位已经利用研发的育种芯片培育出“天华肉羊”新品种，正在培育“奥白肉羊”“金武肉羊”新品种，同时还选育了4个湖羊新品系，努力为种业振兴贡献更多力量。与此同时，“华羊芯”也需要在持续的技术迭代中升级。性状的遗传受到环境、饲养管理等多方面因素的影响，是一个不断优化、不断重复的测选工作中保留优质基因，淘汰劣质基因。

为了保证优质基因能够持续稳定进入繁殖体系，项目组计划将“华羊芯”每年更新一版，不断提高其性能和市场认可度。“我们的下一个目标是实现湖羊基因组选择参考群5年内突破10万只。我们的数据库越庞大，就意味着基因育种的准确度、精确度越高。”王维民说。

不依赖脱氨酶的碱基编辑器开发成功

科技日报（记者陈曦）记者1月14日从中国科学院天津工业生物技术研究所获悉，该所研究员毕昌昊团队和研究员张学礼团队合作开发了不依赖脱氨酶（DAF）的新型碱基编辑器。该成果扩展了碱基编辑器的类型，为工业菌株改造和生物医药等领域研究提供了新的技术工具。相关研究成果近日发表于国际期刊《自然·生物技术》。

碱基对是形成DNA、RNA单体以及编码遗传信息的化学结构。组成碱基对的碱基包括A、G、T、C、U。碱基编辑作为一种前沿的基因组编辑技术，可以在不切割DNA双链的情况下，实现对单个碱基的精准编辑，因此也被认为更具安全性。该技

术已广泛应用于基础研究、基因治疗和细胞工厂构建等领域。

常用的DNA碱基编辑器，主要通过将可编程的DNA结合蛋白（如Cas9）与碱基脱氨酶融合实现基因编辑，包括胞嘧啶碱基编辑器（CBE）、腺嘌呤碱基编辑器（ABE）以及糖基化酶碱基编辑器（GBE）等。它们可以实现C-to-T、A-to-G以及C-to-G等种类的碱基编辑。然而，这些碱基编辑器主要针对C和A碱基的直接编辑，并且它们所包含的脱氨酶可能导致非Cas9依赖的DNA或RNA脱靶。

“为了扩展碱基编辑的类型并避免使用脱氨酶，研究团队构建了两种碱基编辑工具。它们只包含一个胞嘧

啶-DNA糖基化酶（CDG）或胸腺嘧啶-DNA糖基化酶（TDG）和nCas9两个组分。”毕昌昊介绍。

研究团队首先通过定向进化改造人尿嘧啶糖基化酶（UNG）的两个突变体，获得了两种高活性的DNA糖基化酶，分别可以作用于胞嘧啶碱基和胸腺嘧啶碱基。随后，研究团队将这两种DNA糖基化酶与nCas9融合，构建了DAF-CBE和DAF-TBE两种碱基编辑器，用于在大肠杆菌中进行C-to-A和T-to-A的编辑。实验结果显示，这两种碱基编辑器在大肠杆菌中的编辑效率最高分别达到58.7%和54.3%。

研究团队又对这两种碱基编辑器进行了人类密码子优化，在HEK293T细胞中实

现了C-to-G和T-to-G的颠换编辑，编辑效率分别达到38.8%和48.7%。而且，这两种编辑器的脱靶效果低于常用的CBE和GBE。此外，DAF-CBE和DAF-TBE碱基编辑器还成功实现了人诱导多功能干细胞的高效编辑。通过进一步的工程改造，团队还得到了DAF-CBE2和DAF-TBE2两个新版碱基编辑器，其编辑活性更高。

张学礼表示，经过定向进化改造，团队开发的碱基编辑器在大肠杆菌和哺乳动物细胞中实现了高效的碱基颠换编辑，且无需使用脱氨酶。与现有的引导编辑器或糖基化酶碱基编辑器相比，它们具有相当的编辑效率、更小的尺寸和更低的脱靶率。

研究人员将低碳原料高效转化为糖类衍生物

科技日报（记者罗云鹏 通讯员赵梓彬）继将二氧化碳还原合成葡萄糖和脂肪酸之后，日前，中国科学院深圳先进技术研究院（以下简称深圳先进院）研究团队在人工合成糖类衍生物领域取得又一重要突破。该院合成生物学研究所研究员于涛团队与客座研究员杰·基斯林团队，利用合成生物学和代谢工程手段开发的酵母细胞平台，将二氧化碳衍生的甲醇、乙醇、异丙醇等低碳化合物，转化为葡

萄糖、肌醇、氨基葡萄糖、蔗糖和淀粉等糖及糖类衍生物。相关研究成果发表于《自然·催化》。

在这项研究中，团队首先通过分析酵母对不同低碳化合物的利用情况，构建了碳源范围更广的酵母工厂。“也就是说，我们拓宽了可利用的低碳原料谱。除了乙醇之外，酿酒酵母还能以乙醇、异丙醇、丙酸和甘油为碳源，进行葡萄糖生产。”于涛说。

通过碳源的混合使用以及比例调控，研究团队进一步提高工程酵母细胞的生长效率，使其能将甲醇高效转化为葡萄糖。利用这种方式，葡萄糖产量可达每升1.08克，发酵罐产量可达每升13.41克。

“通过引入代谢工程手段和异源合成途径，我们获得的工程酵母能成功将低碳化合物转化为单糖木糖、木糖醇、肌醇和氨基葡萄糖。其中，肌醇和氨基葡萄糖的最高产量分别达到了每升228.71毫克和每升69.99毫克。”深圳先进院合成生物学研究所副研究员汤红婷说。

除单糖外，研究人员还实现了更高碳含量的二糖的合成。在该研究中，团队通过引入集胞藻的蔗糖合成途径和强化内源代谢流，获得了能高效利用低碳化合物合成蔗糖的工程菌株。在此基础上，团队实现了蔗糖的生产，其产量可达每升1.17克，发酵产量可达每升25.41克。

为了实现酵母工厂“吃”多产，研究人员以葡萄糖为研究案例，在酿酒酵母中通过基因过表达和调控葡萄糖抑制效应等手段，强化糖异生途径来提高葡萄糖产

量。研究表明，调控葡萄糖抑制效应，能够有效将葡萄糖的产量提高近一倍，摇瓶产量可达到每升4.27克，发酵罐产量为每升18.28克。这不仅为葡萄糖及其衍生物的产量提高提供了新方法，研究中构建的葡萄糖合成菌株也为进一步研究葡萄糖抑制效应提供了平台。

单细胞蛋白具有高水平的必需氨基酸，是食用和饲用蛋白的潜在替代品。近些年，单细胞蛋白的相关研究成为人们关注的热点。在该研究中，研究团队构建的工程酵母的蛋白含量约达到细胞干重的50%。未来该技术除了有望以低碳原料实现糖及糖类衍生物的高效产出，还能实现单细胞蛋白的产出。

该研究利用新一代生物制造技术构建微生物细胞工厂，将二氧化碳衍生的甲醇等低碳化合物转化为更高价值的糖及糖类衍生物，有助于丰富基于可再生资源驱动的农业新范式，促进“双碳”目标的实现。于涛表示：“未来我们希望能够利用研究成果，进一步推动二氧化碳的绿色转化与利用实现链条式、规模化，让糖及糖类衍生物的生产能够达到工业化应用级别。”



图为酵母菌示意图。视觉中国供图

研究进展

作物根际免疫 制约致病菌入侵机制破解

科技日报（记者金凤）记者1月14日获悉，中国工程院院士、南京农业大学教授沈其荣与西南大学教授张勇团队通过等位基因标记技术，动态示踪微生物种群变化，解析了作物根际免疫制约土传致病菌入侵的过程与生态机制。相关成果近日发表于国际学术期刊《自然·通讯》。

土传致病菌是制约土壤健康和粮食安全的典型生物污染因子。在农业生产中，人们常采用土壤熏蒸、使用农药抗生素、种植抗性品种等方式来阻控土传致病菌。尽管这些方法在当季可取得一定效果，但土传致病菌遗传多样性丰富、适应能力强，极易产生适应性进化，导致抗生素失效、作物抗性退化。当前，致病菌的多样性和生态进化研究已经成为土壤生物健康领域的前沿热点。而研究这一问题的难点，在于如何动态追踪致病菌的种群演替规律。

“研发高通量精准追踪技术，对精细刻画致病菌种群动态演替至关重要。”论文共同通讯作者、南京农业大学教授韦中介绍，根—土交界面是根际抵御土传致病菌进入植物体内的天然屏障。根际微生物、根层细胞、免疫蛋白、拮抗物质等共同决定了根际抵御土传病原菌入侵的能力，即根际免疫能力。“然而，当前仍缺乏对根际免疫强度的有效评估方法，更缺乏对根际免疫制约致病菌入侵过程的深刻理解。”韦中说。

为此，团队以土传植物病原细菌青枯菌为研究对象，采用高通量基因组等位基因标记技术，在青枯菌染色体的非编码区插入序列随机的DNA片段，人工构建了等位基因标记的青枯菌复合群体。他们通过扩增子测序检测DNA片段的丰度变化，采用群体遗传学算法量化根际免疫，利用生态模型探究青枯菌的种群动态变化。

研究发现，根际免疫强度增加，会使选择压增强，导致成功入侵植物体内的青枯菌种类和多样性减少。其中，根系物理结构和免疫能力的完整性是阻控青枯菌入侵的关键。该研究为土传致病菌的生态阻控提供了理论与技术支撑。

草鱼肠道微生物基因目录构建

科技日报（记者马爱平）1月14日，记者从中国农业科学院获悉，该院饲料研究所水产微生物与饲料创新团队成功构建了首个草鱼肠道微生物基因目录。相关研究成果日前发表于国际期刊《微生物组》。

肠道菌群在鱼类的新陈代谢过程和免疫系统运作中扮演着关键角色，但人们目前对于鱼类肠道微生物基因组的认知仍然相当有限。“研究团队运用了宏基因组学技术，成功构建了包含57.6万个基因的非冗余草鱼肠道微生物基因目录，并对这些基因进行了详尽分类与功能注解。这一成果为我们深入理解鱼类肠道微生物的复杂生态系统提供了工具。”论文共同通讯作者、中国农业科学院饲料研究所研究员周志刚说。

研究进一步解析了草鱼肠道微生物组的主要交互模式和功能特征。“我们发现草鱼肠道微生物存在两个功能群。这两个功能群在生态学上呈互斥模式，并且在碳水化合物利用、毒力因子和抗生素耐药性基因等方面均表现出显著的遗传能力差异。”周志刚介绍，团队进一步研究发现，两个功能群之间的比值能够有效地反映草鱼在不同饮食条件下的肠道微生物群落构成和功能特性。因此，这一比值可以作为一个指标，用于评估鱼类肠道菌群的稳定性。

该研究扩充了鱼类肠道微生物的基因目录资源，揭示了鱼类肠道菌群主要门类的功能特征，为肠道菌群的调控提供了潜在靶点。

田间害虫抗药性治理 有了新思路

科技日报（记者马爱平 通讯员陈旭）1月14日，记者从中国农业科学院蔬菜花卉研究所获悉，该所蔬菜虫害防控创新团队破解了重大农业害虫小菜蛾在进化中对Bt生物杀虫剂产生抗药性后维持正常生长发育的奥秘，为田间害虫抗药性治理提供了全新思路。相关研究成果日前发表在《先进科学》上。

Bt生物杀虫剂是一种微生物杀虫剂。害虫对杀虫剂的抗药性进化，往往伴随着生长发育延迟、繁殖能力降低和生存能力下降等。

“杀虫剂的大量使用会导致害虫进化产生抗药性，而害虫的抗药性产生后，往往会对其自身的生长发育不利。但有些小菜蛾对Bt生物杀虫剂产生抗药性后，并不会影响正常生长发育。”论文通讯作者、中国农业科学院蔬菜花卉研究所研究员张友军告诉科技日报记者。这种现象严重威胁了小菜蛾的田间有效防治。

科研团队前期研究已发现，昆虫幼虫激素含量升高，是小菜蛾对Bt生物杀虫剂产生抗药性后维持正常生长发育的关键所在。然而，小菜蛾体内幼虫激素含量为何升高尚不清楚。研究在此基础上进一步发现，核糖核酸甲基化修饰可以抑制幼虫激素酶表达，从而导致对Bt生物杀虫剂具有抗药性的小菜蛾体内的幼虫激素含量显著增加，并使其维持正常生长发育。据悉，这一研究结果对田间害虫的Bt生物杀虫剂抗药性监测预警和综合治理具有重要的理论和实践意义。



图为小菜蛾成虫。

受访单位供图