



畜牧科学研究

基于 Agricultural Animal Omics Database(AAOD) 数据库挖掘绵羊 *GDF9* 基因变异

潘晔君¹, 刘耿¹, 潘传英¹, 张清峰², 蓝贤勇^{1*}

(1. 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西杨凌 712100; 2. 天津奥群牧业有限公司, 天津 301607)

摘要: 目前利用大数据和组学数据库提高绵羊繁殖性能成为解决当前产业发展的关键之一。绵羊生长分化因子 9(*GDF9*) 基因对卵泡发育、排卵率及产羔数起着至关重要的作用, 也是目前确定的绵羊多胎性状的主效基因之一; 虽然其部分重要突变位点与产羔数有关, 但绵羊该基因所有可能基因变异如何挖掘仍然是一个尚待解决的问题。近年来, 西北农林科技大学动物科技学院姜雨团队开发出 Agricultural Animal Omics Database(AAOD) 数据库, 它整合了全球公共数据及中国本地特色绵羊品种的高深度基因组数据, 涵盖 50 多个品种的遗传变异(SNPs、InDels)、表观标记及表型关联信息, 并实现每月动态更新。基于此, 本研究旨在利用 AAOD 数据库挖掘绵羊 *GDF9* 基因变异, 并期望深入解析 *GDF9* 基因的分子结构、表达模式、富集分析、挖掘新的与繁殖力相关的突变位点及其在绵羊繁殖力中的潜在作用。这些结果将为基因编辑技术改良绵羊繁殖力提供新的潜在位点, 将为提高绵羊繁殖力提供了遗传改良的理论依据与策略。

关键词: 绵羊; *GDF9* 基因; Agricultural Animal Omics Database(AAOD) 数据库; 单核苷酸多态性; 插入缺失

[中图分类号] S813.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1004-6704(2025)-03-0001-09

Exploration of Mutations of Sheep *GDF9* Gene based on Agricultural Animal Omics Database(AAOD) Database

PAN Yejun¹, LIU Geng¹, PAN Chuanying¹, ZHANG Qingfeng², LAN Xianyong^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. Tianjin Aoqun Animal Husbandry Co., Ltd., Tianjin 301607, China)

Abstract: Currently, the application of big data and omics databases has become crucial for enhancing sheep reproductive performance in industry development. The Growth Differentiation Factor 9(*GDF9*) gene plays a vital role in follicular development, ovulation rate, and lambing number, serving as one of the major genes determining sheep prolificacy. Although some key mutation sites are associated with lambing numbers, identifying all potential genetic variations of *GDF9* in sheep remains unresolved. In recent years, Prof. Jiang Yu's team at Northwest A&F University developed the Agricultural Animal Omics Database(AAOD), which integrates global public data and high-depth genomic information from Chinese indigenous sheep breeds.

[收稿日期] 2025-02-10

[基金项目] 科技创新 2030-农业生物育种重大项目(2022ZD-040130207)

[第一作者] 潘晔君(1998-), 女, 在读硕士, 主要从事家畜遗传育种研究工作。E-mail: pyj0831@163.com

* [通信作者] 蓝贤勇, E-mail: lan342@126.com

This database contains genetic variants(SNPs and InDels), epigenetic markers, and phenotype association data across over 50 breeds, with monthly updates. Based on AAOD, this study aimed to mine *GDF9* gene variants in sheep and systematically investigate its molecular structure, expression patterns, enrichment analysis, and novel fertility-related mutations.

These findings will identify novel potential functional sites of *GDF9* in sheep reproduction, providing new targets for gene editing technologies and establishing a theoretical foundation for genetic improvement strategies to enhance sheep reproductive efficiency.

Key words: sheep; *GDF9* gene; Agricultural Animal Omics Database(AAOD) database; SNP; InDels

随着国家“乡村振兴”战略的实施,中国畜牧业在未来农业发展中的重要作用日益凸显;作为畜牧业的的重要组成部分,绵羊产业是中国畜牧业的核心经济支柱,那么,如何提高绵羊繁殖力是目前研究人员亟待解决的重要产业问题和乡村经济发展问题。产羔数是核心繁殖性状,绵羊产羔数取决于每个生殖周期中卵母细胞的发育能力以及排卵数量,受到遗传因素、营养因素等影响,其中基因等遗传因素影响较大。为此,从基因角度解析绵羊产羔的遗传因素,是提高绵羊繁殖力的重要途径之一。众所周知,绵羊 *FecB* 基因是决定大多数绵羊品种产多羔的主效基因,但并不是唯一基因,例如生长分化因子 9(growth differentiation factor 9, *GDF9*) 基因。目前国内外对绵羊 *FecB* 基因遗传变异研究较多,而绵羊 *GDF9* 基因的同类研究相对较少。

GDF9 基因的多个突变(如 *FecGH*、*FecGT* 等)与绵羊繁殖性能相关,部分突变能够通过改变 *GDF9* 蛋白的氨基酸序列来影响其功能,从而影响绵羊的繁殖能力^[1]。例如,*FecGH* 突变导致丝氨酸在残基 395 处发生改变,该突变最初被发现与贝尔克拉(Belclare)和剑桥(Cambridge)绵羊品种的不育或排卵率增加有关。它会破坏其与 I 型 TGF- β 家族的相互作用^[2]。*FecGT*,在冰岛巴什拜(Thoka)绵羊中具有特征,其表现为单个碱基变化(A1279C),导致成熟 *GDF9* 蛋白的 C 末端出现非保守氨基酸变化(S109R),预计这种变化会破坏其与 II 型受体的结合^[3]。此外,单核苷酸多态性(SNP)(c. 1111G>A)导致第 371 位的缬氨酸(Val)被甲硫氨酸(Met)置换。虽然该置换曾被鉴定,但与贝尔克拉和剑桥绵羊的生育能力无关,已被证实与挪威白绵羊的产仔数存在较强的关联性^[4]。

随着大数据的发展,动物组学数据库也快速发展,这些为基因变异研究提供了新机遇。近年来,西北农林科技大学动物科技学院姜雨团队开发出 Agricultural Animal Omics Database(AAOD, <http://animal.nwsuaf.edu.cn/>) 数据库,它整合了全球公共数据及中国本地特色绵羊品种的高深度基因组数据,涵盖 50 多个品种的遗传变异(SNPs、InDels)、表观标记及表型关联信息,并实现每月动态更新。

基于此,本研究旨在利用 AAOD 数据库挖掘绵羊 *GDF9* 基因变异,并期望深入解析 *GDF9* 基因的分子结构、表达模式、富集分析、挖掘新的与繁殖力相关的突变位点及其在绵羊繁殖力中的潜在作用。这些结果将为基因编辑技术改良绵羊繁殖力提供新的潜在位点,将为提高绵羊繁殖力提供了遗传改良的理论依据与策略。

1 材料和方法

本研究通过查阅 *GDF9* 基因的相关文献和研究进展,利用 NCBI 在线数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 和 AAOD 在线数据库,通过 *GDF9* 基因名称,同时设置一定的阈值,分析该基因的 SNPs 及 InDels 以及可能影响的基因和蛋白质,最终分析可能发挥的生物学功能。同时,利用基因组测序数据和生物信息学分析,验证基因变异信息。

1.1 数据库查询

1.1.1 *GDF9* 基因查询 根据 NCBI 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询,获得 *GDF9* 基本信息。

1.1.2 *GDF9* 基因结构、表达、GO、KEGG 和 WikiPathway 富集分析 利用 AAOD 在线数据库中 RGD 栏搜索绵羊 *GDF9* 基因信息。RGD 是一个交互式可视化网站,集成了来自反刍动物基因组计划(RGP)和其他的数据全球公共数据。RGD 提供多种数据服务,包括比较基因组、基因表达、表观基因组学信号、基因本体和通路功能注释、QTL 和 GWAS。RGD 还提供在线工具、UCSC 基因组浏览器、BLAT、BLAST、表格下载和 LiftOver,用于执行基因组数据可视化和分析。

1.1.3 *GDF9* 基因上存在的 SNPs 位点 利用 AAOD 在线数据库中 SheepVar 栏的 SNPs 数据库,通过 Gene symbol 以及设置次要等位基因的频率(minor allele frequency, MAF) ≥ 0.25 等指标进行检索(图 1)。结果显示,图中所包含的信息包括该基因位于第几条染色体,及染色体位置,突变类型,突变频率,在基因中所处位置,可能产生的影响,突变 ID(未研究的显示 novel)以及基因细节、在世界绵羊品种中的突变频率以及跳转到 UCSC 的快捷链接等,有助于研究人员快速查找基因相关细节(图 2)。同样,利用 AAOD 在线数据库中 SheepVar 栏的 InDels 数据库,通过 Gene symbol 以及设置 MAF ≥ 0.05 等指标进行检索(图 3)。

1.2 实验研究

本研究从天津奥群牧业有限公司(天津,中国)

的采集 120 只成年澳洲白母羊血样。所有绵羊在相同生长环境中饲养,并接受常规饲喂和饮水管理。

母羊通常在 8 月龄、体重 ≥ 50 kg 时进行首次配种,后续配种间隔为首次配种后每 8 个月一次。利用实

SNPs(single nucleotide polymorphism)

Please enter a dbSNP rsid, or a gene symbol, or chrom location to obtain SNPs information and SNPs Frequency distribution of sheep breeds or core group worldwide.

Basic Search

dbSNP rsid: (e.g. rs430448688)

Or Gene symbol: (e.g. NR6A1, LCORL, DGAT1)

Or Chrom location: (e.g. 3:11130000-11160000 or 9:13560000)

Advanced Search

Minor Allele Frequency: (range: 0-1)

Consequence Type:

- Gene Variant
 - Coding Variant
 - Non-coding Variant
 - Splice Variant
 - Intergenic Variant
 - upstream_gene_variant
 - downstream_gene_variant
 - Intergenic_variant
 - Intragenic Variant
 - Intragenic_variant

图 1 *GDF9* 基因 SNPs 检索及阈值设置

Fig. 1 Screening and threshold setting of *GDF9* gene SNPs

全球绵羊品种的频率分布

全球绵羊品种的频率分布

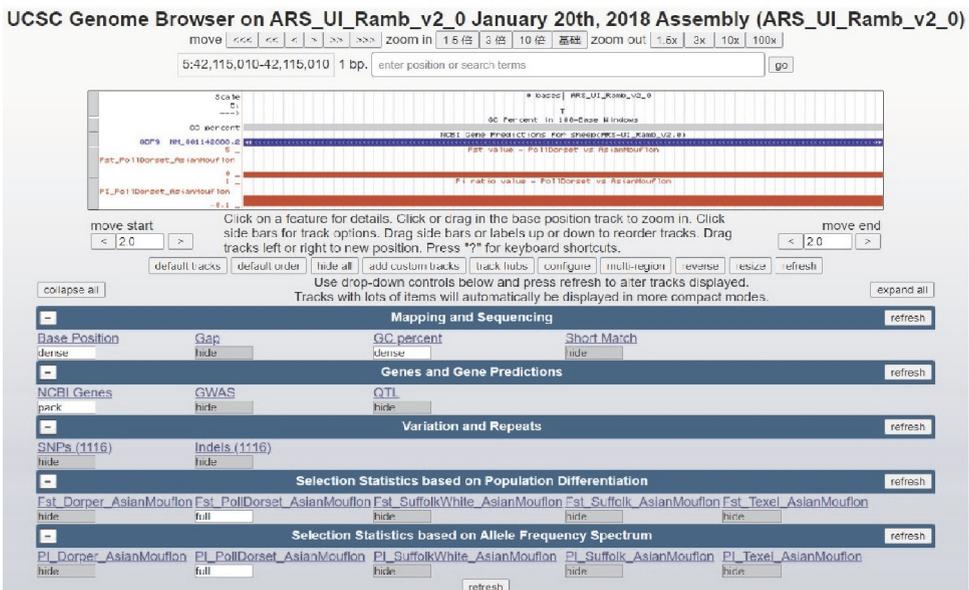
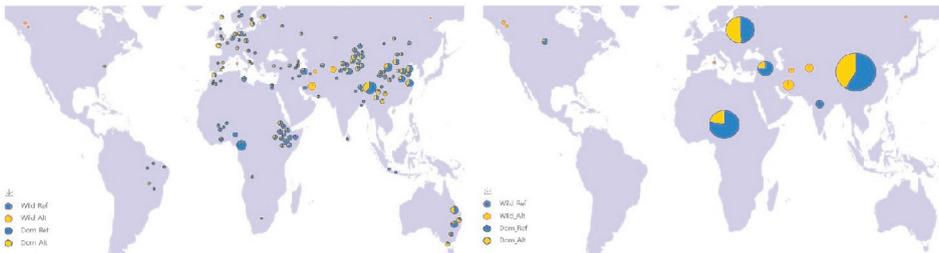


图 2 *GDF9* 基因(第 5 号染色体 4211158 位点)突变在世界绵羊品种中的分布频率

Fig. 2 Frequency distribution of *GDF9* gene mutation (locus 4211158 on chromosome 5) in global sheep breeds

InDels (insertion-deletion)

Please enter a gene symbol or a chrom location to obtain InDels information and InDels Frequency distribution of sheep breeds or core group worldwide.

Basic Search

dbSNP rsid: (e.g. rs430448688)

Or Gene symbol: (e.g. NR6A1, LCORLI, DGAT1)

Or Chrom location: (e.g. 3:11130000-11160000 or 9:13560000)

Advanced Search

Minor Allele Frequency (range: 0-1) >-

Consequence Type:

- Gene Variant -
 - Coding Variant -
 - Non-coding Variant -
 - Splice Variant -
- Intergenic Variant -
 - upstream_gene_variant
 - downstream_gene_variant
 - Intergenic_variant
- Intragenic Variant -
 - intragenic_variant

图 3 *GDF9* 基因 InDels 检索及阈值设置

Fig. 3 Screening and threshold setting of *GDF9* gene InDels

实验室团队经典酚氯仿法提取基因组 DNA, 然后利用 Nanodrop 2000 测定母液 DNA 浓度, 最后稀释工作浓度 DNA 到 50 ng/ μ L; 将工作浓度 DNA 交由华大测序公司进行高深度全基因组重测序; 利用生物信息学方法筛选绵羊 *GDF9* 基因需要验证的 SNP 位点; 利用生物信息学方法, 结合 AAOD 在线数据库对鉴定到的 *GDF9* 基因候选突变进行分析, 计算基因型频率、等位基因频率、哈迪-温伯格平衡 (HWE)、杂合度 (He)、纯合度 (Ho) 和多态信息含量 (PIC)。

2 结果与分析

2.1 不同物种 *GDF9* 基因概述

根据 NCBI 数据库, 发现人、猪、牛、山羊、绵羊、鸡、小鼠的 *GDF9* 基因的外显子数目和编码氨基酸情况存在差异性, 但是牛科动物 (牛、山羊和绵羊) 之间相似性较高 (表 1)。

2.2 不同物种 *GDF9* 基因结构、表达、GO、KEGG 和 WikiPathway 富集分析

基因表达结果显示, *GDF9* 基因在 80 个不同阶段的组织 (图 4), 共 832 个样本的组织特异性指数为 $T=0.77979$ (图 5)。绵羊 *GDF9* 基因总共有 110 个物种的直系同源基因, 包括牛、羚羊、洛克鸽子、斑马鱼、狗、兔、中国穿山甲等物种 (图 6)。GO 富集分

析结果显示, 绵羊 *GDF9* 基因的分子功能为生长因子活性; 该基因的细胞组分富集在细胞质; *GDF9* 基因的生物学过程富集在卵母细胞生长、细胞群增殖的正调控、细胞生长的负调节和黄体酮分泌的调节生物学过程。KEGG 和 WikiPathway 富集分析结果显示, 绵羊 *GDF9* 基因主要存在于细胞因子-细胞因子受体相互作用信号通路、细胞因子和生长因子信号通路, 以及卵巢不孕症信号通路 (图 7)。

表 1 不同物种 *GDF9* 基因的染色体定位、CDS 长度、外显子数和编码氨基酸数量

Table 1 Chromosomal localization, CDS length, number of exons, and encoded amino acids of the *GDF9* gene across species

畜种	染色体位置	CDS 区全长 /bp	外显子数	编码氨基酸数量/个
人	2	1 589	6	366
猪	2	1 335	2	444
牛	7	1 816	2	453
山羊	11	1 362	3	365
绵羊	5	1 605	2	453
鸡	13	1 707	2	457
小鼠	11	1 708	4	353

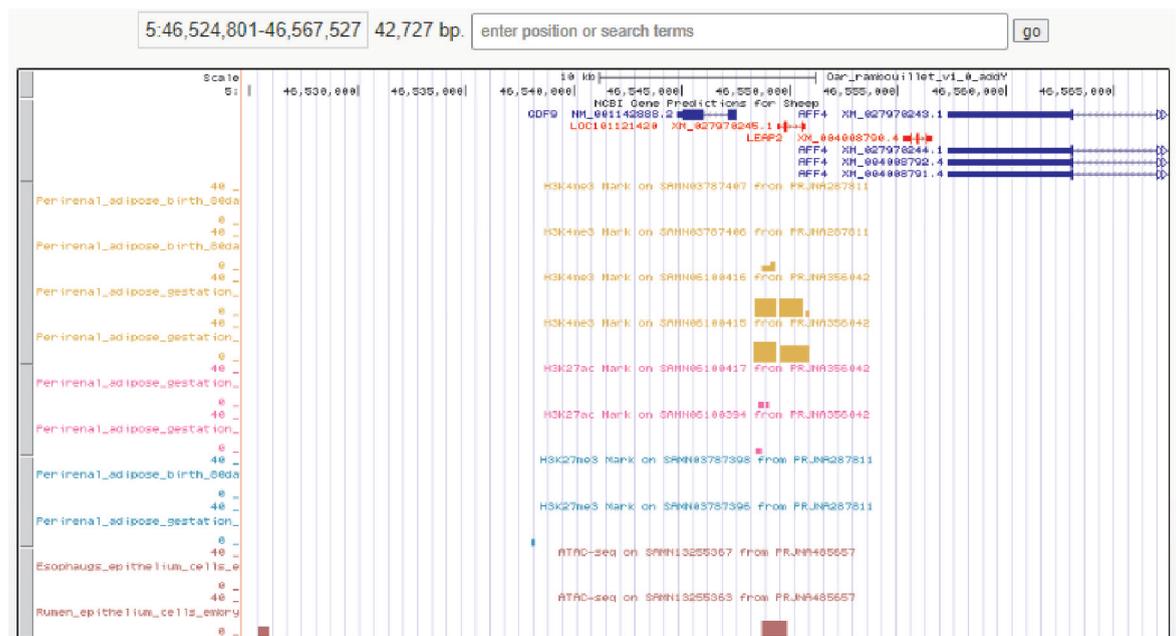


图 4 *GDF9* 基因结构和调控

Fig. 4 Structure and regulation of the *GDF9* gene

Gene Expression

[Tissue specificity index for *GDF9* gene: $\tau = 0.77979$]

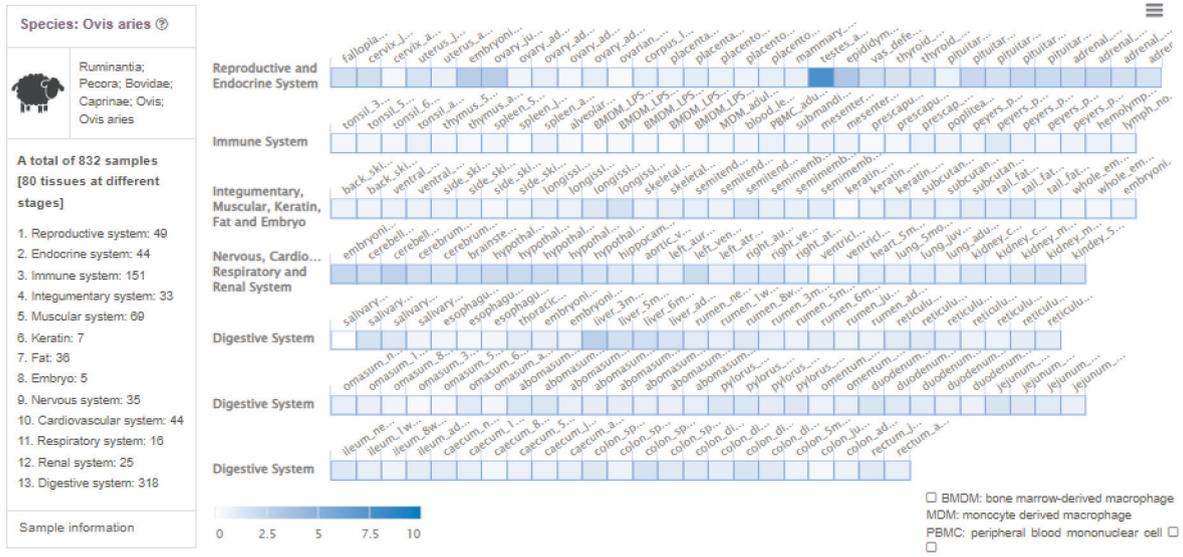


图 5 *GDF9* 基因表达

Fig. 5 *GDF9* gene expression

Orthologous Gene

Goat Gene	Goat Transcript	Cattle Gene	Sheep Gene	Species	Length	Position	cDNA (FASTA)	Protein (FASTA)
GDF9	NM_174681.2	GDF9	GDF9	Cattle	1791	7.44442456-44445396-	FASTA	FASTA
GDF9	NM_174681.2	GDF9	GDF9	ZebuCattle	1791	7.66348906-66351845+	FASTA	FASTA
GDF9	NM_174681.2	GDF9	GDF9	Gaur	1791	CM024441.1:40883987-40886928-	FASTA	FASTA
GDF9	NM_174681.2	GDF9	GDF9	Gayal	1791	RBVW01003450.1:71812-74753-	FASTA	FASTA
GDF9	NM_174681.2	GDF9	GDF9	AmericanBison	1791	NW_011494775.1:6004025-6006966+	FASTA	FASTA

Showing 1 to 5 of 110 entries

图 6 *GDF9* 直系同源基因

Fig. 6 *GDF9* orthologous genes

2.3 绵羊 *GDF9* 基因 SNPs 位点

基于数据库分析发现:在 *GDF9* 基因的下游和外显子处,共测出 3 个 SNPs 突变(图 8,图 10);且位于第 5 号染色体上,在澳洲白羊上找到 g. 42115010T>C 突变位点,结合全基因组重测序结果和采样得到的产羔性状进行分析(表 2、表 3),这些未研究的 SNPs 突变位点都是影响调控绵羊繁殖力的潜在因素,也是成为改良绵羊繁殖性能的潜在研究目标。

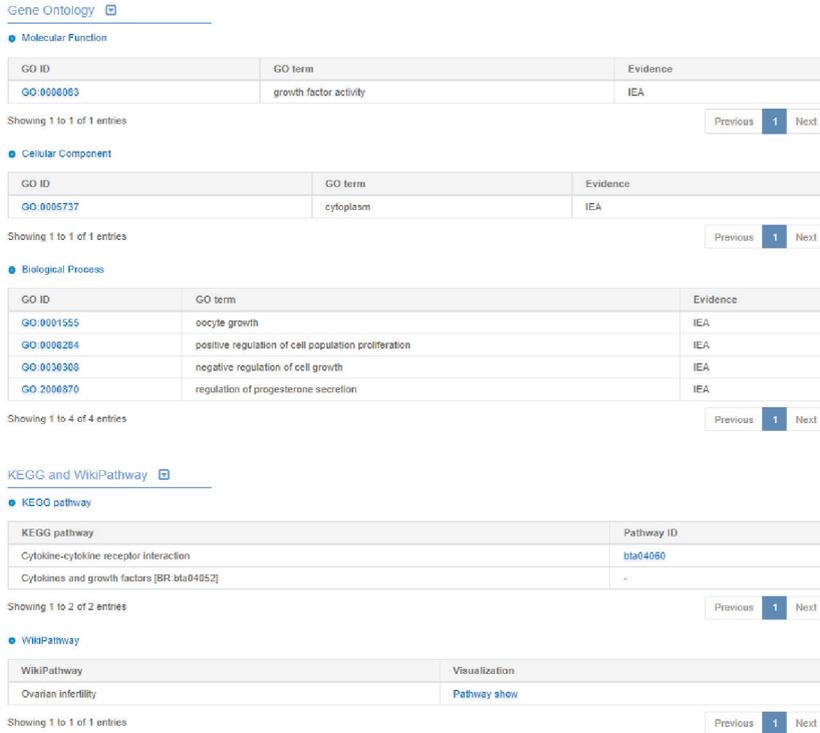


图 7 *GDF9* 基因 GO、KEGG 和 WikiPathway 富集分析

Fig. 7 GO, KEGG, and WikiPathway enrichment analysis of the *GDF9* gene

» SNPs Found

Chr	Pos	Alleles	MA	MAF	Consequence Type	Putative Impact	Gene	Variant ID	Gene Details	Breed Frequency	CoreGroup Frequency	Visualization
5	42111158	C/T	T	0.2550	downstream_gene_variant	MODIFIER	GDF9	novel	Show	Show	Show	Gbrowse
5	42111289	T/G	G	0.2803	downstream_gene_variant	MODIFIER	GDF9	novel	Show	Show	Show	Gbrowse
5	42115010	C/T	T	0.4101	synonymous_variant	LOW	GDF9	novel	Show	Show	Show	Gbrowse

图 8 *GDF9* 基因可能存在的 SNPs 变异表

Fig. 8 Potential SNPs variations in the *GDF9* gene

表 2 澳洲白羊 *GDF9* 基因 g. 42115010T>C 突变基因频率分析

Table 2 Analysis of allele frequency for the *GDF9* gene g. 42115010T>C mutation in Australian white sheep

位点	样本量	基因型频率			等位基因频率	
		II	ID	DD	I	D
g. 42115010T>C	n=120	0.275(n=33)	0.492(n=59)	0.233(n=28)	0.521	0.479

表 3 澳洲白羊 *GDF9* 基因 g. 42115010T>C 突变的遗传多样性分析Table 3 Genetic diversity analysis of the *GDF9* gene g. 42115010T>C mutation in Australian white sheep

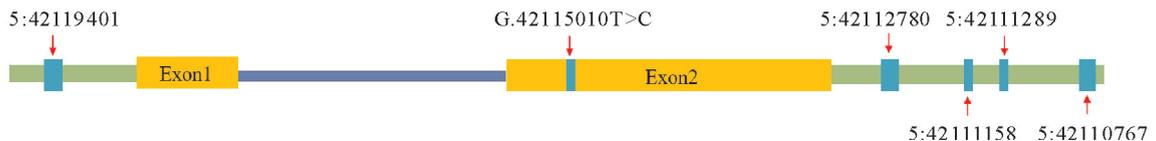
位点	样本量	哈代-温伯格 平衡 HWE	群体遗传多样性参数				氨基酸变异	突变类型
			Ho	He	Ne	PIC		
g. 42115010T>C	n=120	$P>0.05$	0.501	0.499	1.997	0.375	L159L	同义突变

» InDels Found

Chr	Pos	Alleles	MA	MAF	Consequence Type	Putative Impact	Gene	Variant ID	Gene Details	Breed Frequency	CoreGroup Frequency	Visualization
5	42110797	A/AGC	AGC	0.148400	downstream_gene_variant	MODIFIER	GDF9	novel	Show	Show	Show	Gbrowse
5	42112780	A/ATGT	ATGT	0.206500	downstream_gene_variant	MODIFIER	GDF9	novel	Show	Show	Show	Gbrowse
5	42119401	T/TCA	TCA	0.204200	upstream_gene_variant	MODIFIER	GDF9	novel	Show	Show	Show	Gbrowse

Showing 1 to 3 of 3 entries

Previous 1 Next

图 9 *GDF9* 基因可能存在的 InDels 变异Fig. 9 Potential InDel variants of the *GDF9* gene图 10 *GDF9* 基因可能存在的 SNPs 和 InDels 变异Fig. 10 Potential SNPs and InDels variants of the *GDF9* gene

3 讨论

GDF9 基因最初在人类卵巢中被发现,属于转化生长因子 β 超家族(transforming growth factor beta family, TGF- β)。该基因是早期卵泡形成过程中重要的生长和分化因子,它在决定哺乳动物的排卵配额和整体生育能力方面起着重要作用^[5]。绵羊 *GDF9* 基因的 GO、KEGG 和 WikiPathway 富集分析显示, *GDF9* 蛋白主要在细胞质中合成并加工,随后分泌至胞外发挥作用,它在卵母细胞成熟和早期卵泡发育中起关键作用(GO-0001555),通过调控颗粒细胞增殖(GO-0008284)、抑制异常细胞生长(GO-0030308)及调节孕酮分泌(GO-2000870),维持卵泡微环境稳态,直接影响排卵率和繁殖力。*GDF9* 可以与骨形态发生蛋白 15(bone morphogenetic protein 15, BMP15)一起维持滤泡微环境的稳定性,这种协同作用对于排卵、受精和女性生殖至关重要^[6]。

将水牛 *GDF9* 成熟肽基因序列与其他反刍动物进行同源性比较,结果显示高度保守性^[7]。*GDF9* 的保守性使其在不同反刍动物中具有相似功能:在牛方面, *GDF9* 可以在体外刺激牛颗粒细胞的孕酮合成^[8],在鲁西牛中 *GDF9* 的 3'UTR 存在缺失突变,该位点在单胎牛和双胎牛群体中的基因型分布存在极

显著差异,双胎牛群体的等位基因频率明显大于单胎牛群体^[9]。在山羊中,研究人员发现 *GDF9* 基因 Exon2 外显子 g. 41769045G>A 在陕北白绒山羊群体中存在高繁殖基因型^[10]。在绵羊上,研究发现产双羔组藏羊卵巢组织中的 *GDF9* 基因表达量显著高于产单羔组羊卵巢组织^[11],蒙古羊 *GDF9* 基因启动子区存在 1 个突变位点 g. 46547645T>G 与产羔数显著相关^[12],诸如此类, *GDF9* 基因在不同绵羊品种中被发现存在高繁突变^[13],因此, *GDF9* 基因被认为是绵羊除了 FecB 之外的多胎主效基因之一^[14]。中国有 40 多个本地绵羊品种且大多为单胎羊,少部分具有高产性,例如小尾寒羊和湖羊。为了培育更多高产品种,研究人员对高产绵羊多维度展开研究。在小尾寒羊上,研究人员发现 *GDF9* 基因中的杂合基因型 CD 突变母羊的产羔数量比野生型 CC 母羊多 0.77,等位基因 D 可能是改善小尾寒羊窝产仔数的潜在遗传标记。在湖羊上,研究人员发现三羔湖羊卵巢组织中 *GDF9* 基因 mRNA 表达水平显著高于单羔湖羊^[15]。此外,研究人员还在湖羊的启动子区域检测到三个完全连锁的 SNPs,均可影响湖羊的繁殖性能^[16]。

虽然当前关于 *GDF9* 基因已经存在大量研究,但是不同品种或地理种群可能携带独特突变,绵羊

的 *GDF9* 突变在藏系绵羊与湖羊中表现不同,需针对性研究,此外 *GDF9* 某些突变可能降低胚胎存活率^[17],研究人员需要找到“最佳突变”,提高绵羊繁殖力的同时不会引发生殖障碍。为此,本研究的核心创新点在于首次基于西北农林科技大学姜雨团队构建的动物组学数据库(AAOD),筛查 *GDF9* 基因的 SNP/InDel 位点。AAOD 数据库整合 110 个物种(78 个反刍物种+32 个外群物种)的基因组数据,包括黄牛、绵羊、山羊、牦牛、驯鹿等,涵盖全球公共数据及中国本土特色品种,包含近百万个顺式调控元件(基于 1 053 个表观数据集)、1 936 个转录组的基因表达数据,以及 15.5 万条表型数据。可以通过基因组共线性比对和直系同源基因注释,识别反刍动物进化中保守的功能元件,例如与生长、繁殖、适应性相关的调控区域^[18]。也可以利用表观数据(如染色质开放区域、组蛋白修饰)注释调控元件,结合转录组数据解析基因表达模式,构建基因型-表型关联网络。本研究通过筛选高频功能突变,全面分析 *GDF9* 基因的功能和突变影响。本实验在数据库中 SNPs 筛选中设置次要等位基因频率(MAF)阈值 ≥ 0.25 ,该阈值参考群体遗传学中常见变异的筛选标准,旨在排除低频突变(MAF < 0.25)以减少假阳性干扰,同时保留具有潜在功能意义的群体高频位点^[19-20]。在 InDels 筛选中设置 MAF ≥ 0.05 ,由于 InDels 在基因组中分布稀疏且功能影响较大,较低阈值可捕获更多稀有但可能具有表型效应的变异^[21]。

本研究通过 AAUD 数据库挖掘得到未经报道的 3 个 SNPs 和 3 个 InDels 变异,通过全基因组重测序可以在澳洲白羊上检测到 g. 42115010T>C 突变,分析其基因频率和遗传多样性,该位点符合哈代-温伯格平衡,群体中 T 和 C 等位基因分布稳定,无明显选择或突变压力,杂合度($H_o \approx H_e$)和有效等位基因数($N_e \approx 2$)表明该位点在群体中具有中性遗传特征,中等 PIC 值(0.375)表明该位点适用于遗传多样性分析。氨基酸未发生改变(L159L),推测为同义突变,通常认为对蛋白质功能无直接影响,该位点位于外显子中部,使用 SpliceAI 预测显示该突变的 Delta Score 较低,该突变对剪接供体或受体位点的破坏或激活程度低,后续可以使用 minigene 剪接实验验证 RNA 剪接是否异常。除此以外,还需要补充对启动子核心区域进行验证,判断处于 *GDF9* 基因启动子区域的 5:42119401 突变是否影响基因转录。

筛选的高繁突变为绵羊繁殖力改良提供了以下

实践路径:使用分子标记辅助选择技术(MAS),结合基因型与产羔数,以新 SNPs 和 InDels 位点作为候选分子标记,筛选高繁殖力绵羊个体,优先选择携带“高繁”等位基因的个体作为亲本,加速群体遗传改良。此外,还可以借助 CRISPR/Cas9 或碱基编辑技术对目标进行精准改良。胞嘧啶碱基编辑器(CBE)和 CRISPR/Cas9 介导的 HDR 方法都能够将核苷酸替换引入基因组,这在改善牲畜物种的经济重要性状方面表现出巨大潜力。目前已成功运用 CRISPR/Cas9 介导的 HDR 方法将 $FecG^H$ 突变的胚胎碱基编辑成功率提高至 16.1%。*GDF9* 基因 $FecG^H$ 的突变(g. C1184T, p. S395F)增加了剑桥羊和贝尔克莱尔羊的繁殖力。

本研究系统解析了 *GDF9* 基因对绵羊繁殖力的调控机制,发现其 SNPs/InDels 遗传变异通过改变卵泡发育进程及排卵率显著影响繁殖性能。进一步研究表明,多个新鉴定变异位点可作为提升繁殖效率的潜在分子标记,但其具体调控网络及与繁殖性状的剂量效应仍需深入验证。基于此,未来结合基因编辑技术靶向优化 *GDF9* 关键变异,将推动建立精准分子育种体系,为家畜遗传资源的高效利用和繁殖性能定向改良提供了理论依据与技术支撑。

参考文献:

- [1] WANG J Q, CAO W G. Progress in exploring genes for high fertility in ewes[J]. Yi Chuan, 2011, 33(9): 953-961.
- [2] JUENGL J L, DAVIS G H, MCNATTY K P. Using sheep lines with mutations in single genes to better understand ovarian function[J]. Reproduction, 2013, 146(4): 111-123.
- [3] NICOL L, BISHOP S C, PONG-WONG R, et al. Homozygosity for a single base-pair mutation in the oocyte-specific *GDF9* gene results in sterility in Thoka sheep[J]. Reproduction, 2009, 138(6): 921-933.
- [4] SOUZA C H, MCNEILLY A S, BENAVIDES M V, et al. Mutation in the protease cleavage site of *GDF9* increases ovulation rate and litter size in heterozygous ewes and causes infertility in homozygous ewes[J]. Animal Genetics, 2014, 45(5): 732-739.
- [5] DRAGOVIC R A, RITTER L J, SCHULZ S J, et al. Oocyte-secreted factor activation of SMAD 2/3 signaling enables initiation of mouse cumulus cell expansion[J]. Biology of Reproduction, 2007, 76(5): 848-857.
- [6] VITT U A, HAYASHI M, KLEIN C, et al. Growth differentiation factor-9 stimulates proliferation but suppresses the follicle-stimulating hormone-induced differentiation of cultured granulosa cells from small

- antral and preovulatory rat follicles[J]. *Biology of Reproduction*, 2000, 62(2):370-377.
- [7] 刘玉鹏,彭中友,郭日红,等.水牛生长分化因子 9 成熟肽基因克隆及重组蛋白质和多克隆抗体的制备[J]. *江苏农业学报*, 2013, 29(2):346-351.
LIU Y P, PENG ZH Y, GUO R H, et al. Cloning of buffalo growth differentiation factor 9 mature peptide cDNA sequence and preparations of the recombinant protein and polyclonal antibody[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 29(2):346-351.
- [8] 李长志,李伟,宋伟红,等.生长分化因子 9 对牛颗粒细胞孕酮合成影响的研究[J]. *黑龙江动物繁殖*, 2020, 28(2):19-22.
LI CH ZH, LI W, SONG W H, et al. Effect of growth differentiation factor 9 on progesterone synthesis of bovine granulosa cells[J]. *Heilongjiang Journal of Animal Reproduction*, 2020, 28(2):19-22.
- [9] 韩修远,陈国福,陈保君,等.牛双胎生产技术与相关基因研究进展[J]. *黑龙江动物繁殖*, 2024, 32(3):18-24.
HAN X Y, CHEN G F, CHEN B J, et al. Advances in the breeding techniques and candidate genes of bovine twins[J]. *Heilongjiang Journal of Animal Reproduction*, 2024, 32(3):18-24.
- [10] 胡忠昌,霍永智,刘柯柯,等.陕北白绒山羊 *GDF9* 基因多态性与产羔数的关联性分析[J]. *当代畜牧*, 2024 (11):32-35.
- [11] 金雲鑫,孙武,马世科,等.不同产羔数藏羊卵巢组织中 *GDF9* 基因 mRNA 表达分析[J]. *中国畜禽种业*, 2025, 21(1):32-39.
JIN Y X, SUN W, MA SH K, et al. Analysis of *GDF9* gene mRNA expression in ovarian tissues of Tibetan sheep with different lambing capacities[J]. *The Chinese Livestock and Poultry Breeding*, 2025, 21(1):32-39.
- [12] 程子轩,路大同,刘佳森,等. *GDF9* 基因 g. 46547645T>G 位点对启动子活性和蒙古羊产羔数的影响[J]. *农业生物技术学报*, 2021, 29(3):540-549.
CHENG Z X, LU D T, LIU J S, et al. Effect of g. 46547645T>G locus of *GDF9* gene on promoter activity and litter size of Mongolia sheep (*Ovis aries*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2021, 29(3):540-549.
- [13] 刘梦兰,邵旭文,单雪松,等. BMP 亚家族成员中影响绵羊繁殖性能的基因研究进展[J]. *家畜生态学报*, 2024, 45(7):1-8.
LIU M L, SHAO X W, SHAN X S, et al. Progress in genetic research on the effect of BMP subfamily members on sheep reproductive performance[J]. *Journal of Domestic Animal Ecology*, 2024, 45(7):1-8.
- [14] HANRAHAN J P, GREGAN S M, MULSANT P, et al. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors *GDF9* and *BMP15* are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*) [J]. *Biology of Reproduction*, 2004, 70(4):900-909.
- [15] 胡冬利,李齐发,徐业芬,等.湖羊生长分化因子 9 (*GDF9*) 基因组织表达特征、mRNA 表达水平与 SNPs 分析[J]. *农业生物技术学报*, 2010, 18(3):533-538.
HU D L, LI Q F, XU Y F, et al. The tissue expression profile, mRNA expression level and SNPs analysis on *GDF9* gene in hu sheep [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2010, 18(3):533-538.
- [16] LI Y X, JIN W W, WANG Y, et al. Three complete linkage SNPs of *GDF9* gene affect the litter size probably mediated by *OCT1* in hu sheep [J]. *DNA and Cell Biology*, 2020, 39(4):563-571.
- [17] 陈勇,雒秋江,张亚军,等.绵羊 *BMP15* 和 *GDF9* 基因多态性与产羔性能间的关系[J]. *新疆农业大学学报*, 2009, 32(5):10-17.
CHEN Y, LUO Q J, ZHANG Y J, et al. Relationships between genetic polymorphisms of *BMP15* and *GDF9* gene and litter size of sheep [J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2009, 32(5):10-17.
- [18] FU W W, WANG R, NANA EI H A, et al. RGD v2. 0: A major update of the ruminant functional and evolutionary genomics database [J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(1):1 091-1 099.
- [19] 任海龙,许东林,张晶,等.菜薹 KASP-SNP 指纹图谱构建及品种鉴定 [J]. *园艺学报*, 2023, 50(2):307-318.
REN H L, XU D L, ZHANG J, et al. Establishment of SNP fingerprinting and identification of Chinese flowering cabbage varieties based on KASP genotyping [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2023, 50(2):307-318.
- [20] WANG C, DAI J C, QIN N, et al. Analyses of rare predisposing variants of lung cancer in 6,004 whole genomes in Chinese [J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(10):1 223-1 239.
- [21] MACARTHUR D G, MANOLIO T A, DIMMOCK D P, et al. Guidelines for investigating causality of sequence variants in human disease [J]. *Nature*, 2014, 508(7 497):469-476.