

CRISPR/Cas9 文库筛选技术及其在畜禽研究中的应用

王颖慧^{1,2}, 连正兴^{2*}

(1. 中国农业大学烟台研究院, 山东烟台 264670; 2. 中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100193)

摘要: CRISPR/Cas9 基因编辑技术因其操作简便、高效和准确等优势, 成为最流行的基因编辑技术之一, 在畜禽遗传改良领域得到广泛应用。CRISPR/Cas9 文库筛选技术作为新一代基因编辑技术, 在解决畜禽育种、疾病控制等方面都有诸多应用, 特别是在猪、牛、羊、鸡等畜禽的遗传育种和疾病防治研究中展现出巨大潜力。通过 CRISPR/Cas9 文库筛选, 能够筛选出与多种病毒及病原体相关的抗性基因, 同时挖掘出控制畜禽生长速度、肉质品质等重要性状的关键因子。本文介绍了 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的基本原理及方法流程, 综述了 CRISPR/Cas9 文库筛选技术对猪、牛、羊、鸡等畜禽在遗传改良、疾病防控方面的研究进展, 以期为今后深入挖掘 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的应用价值提供参考。

关键词: 基因编辑技术; CRISPR/Cas9 文库筛选技术; 畜禽遗传育种; 疾病防治

中图分类号: S813

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250204-01

成簇规律间隔短回文重复序列及其相关蛋白 9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR - associated Protein 9, CRISPR/Cas9) 是在长期演化过程中细菌和古细菌形成的一种适应性免疫防御系统, 能够用于抵抗入侵的病毒及外源 DNA^[1]。CRISPR/Cas9 基因编辑技术使用特定引物和酶, 借助细菌天然免疫系统中的 CRISPR/Cas9 系统, 可精确切割和编辑目标基因^[2], 这一技术由于操作简便、高效和准确等优势而备受欢迎^[3]。作为新一代的基因编辑技术, CRISPR/Cas9 已经在牛、羊、猪、鸡等畜禽的遗传育种^[4-5]、疾病控制^[6-7]和繁殖改良^[8-9]等方面广泛应用。

随着对 CRISPR/Cas9 系统的深入探索与研究, 科学家们逐渐认识到其在基因编辑领域的巨大潜力。在这一背景下, 构建基因组文库, 并巧妙地利用 CRISPR/Cas9 系统进行高通量筛选, 已成为当前研究目标基因的一种主要且高效的方法^[10]。相较于传统的 cDNA 文

库和 RNAi 文库, CRISPR/Cas9 文库展现出设计灵活性、操作便捷性以及筛选效率高等显著优势^[11]。这些特点使得 CRISPR/Cas9 文库在基因功能研究^[12]、疾病模型构建^[13]以及药物筛选^[14]等多个领域具有更为广泛的应用范围。

CRISPR/Cas9 文库可以根据需求进行分类, 以满足不同的试验目的。具体而言, 它可以被划分为敲除文库、激活文库和抑制文库三大类^[15-17]。激活文库在功能获得性筛选方面具有优势, 能够激活或增强基因表达; 抑制文库比 RNAi 文库在功能缺失性筛选方面更强大, 对于确定靶向药物的最佳组合具有重要意义; 敲除文库可以用于大规模基因功能的研究, 能够同时对许多基因进行功能性筛选, 有助于开发针对性的治疗药物。在畜禽研究领域, CRISPR/Cas9 文库筛选技术为解决育种改良、营养调控以及疾病控制等关键问题提出了创新解决方案, 有力地推动了畜牧行业的发展。此外, CRISPR/Cas9 文库筛选技术具备深入挖掘畜禽生长速率、肉质特性及抗病性等关键性状与表型相关基因的能力, 为实现畜禽遗传改良提供了有效途径, 并对畜禽产品的经济价值产生积极影响, 增强畜禽产业的市场竞争力。综上所述, 本文旨在介绍 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的基本原理与方法及其目前在畜禽的遗传改良、疾病防控等

收稿日期: 2025-02-04; 修回日期: 2025-03-22

资助项目: 中国国家重点研发项目 (2021YFD1200902); 国家自然科学基金 (32272853)

作者简介: 王颖慧 (2002-), 女, 山西晋中人, 硕士研究生, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: 18303440158@163.com

* 通信作者: 连正兴 (1965-), 男, 黑龙江哈尔滨人, 教授, 主要从事动物遗传育种研究, E-mail: lianzhx@cau.edu.cn

方面的研究进展。

1 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的原理和方法

1.1 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的原理 CRISPR/Cas9 文库筛选是 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的一种应用，实质上就是用计算机设计靶向多个基因的单向导 RNA (Single Guide RNA, sgRNA)，组成 sgRNA 文库，再将 sgRNA 文库进行慢病毒包装，随后转移至宿主细胞中以引发各种基因突变，然后给细胞加以筛选因素(如药物压力筛选、细胞分选等)，导致部分细胞死亡，并收集筛选后的细胞进行高通量测序，获取存活细胞中富集的 sgRNA，分析其对应的基因，从而鉴定出影响表型的候选基因^[10, 18]。

1.2 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的方法和基本流程

1.2.1 sgRNA 文库的设计与合成 确定所研究的基因序列：针对某一特定基因进行研究，可以从 Gene 数据库中获取目标基因序列；选择合适的 sgRNA 设计软件并组成 sgRNA 文库，且需要保证其较低的脱靶效率^[18]。

1.2.2 载体的构建及侵染宿主细胞 将 sgRNA 文库进行慢病毒包装，并以较低的病毒感染复数转导至 Cas9 表达细胞系，确保每个细胞只进入 1 个病毒，从而实现基因编辑^[18]。除此之外，目前研究发现^[19]还有一种 PiggyBac (PB) 转座子系统可用于文库载体构建，在 CRISPR/Cas9 系统中 PB 转座子可以用来构建含有多个 sgRNA 的文库，用于高通量的基因功能筛选。PB 转座子系统还有助于克服传统病毒载体如慢病毒在构建 CRISPR/Cas9 基因敲除文库时面临的限制，如载容量有限和难以应用于多种类型的真核生物。

1.2.3 阳性或阴性筛选 根据研究目的不同，高通量筛选分为阳性筛选和阴性筛选。阳性筛选是在施加特定筛选压力(如药物处理)后进行的，通过诱导文库的基因组扰动，使得只有具有抗性的细胞能够存活，这些存活细胞中被编辑的基因往往与细胞存活相关，称为抗性基因或抑制基因；而阴性筛选则侧重于选择在不同时间点存活的细胞，横向比较它们的 sgRNA 丰度差异来进行分析，如果发现某些 sgRNA 缺失，其对应的基因很可能对细胞的生存至关重要，这些基因的功能可能与细胞存活紧密相关^[18]。此外，筛选还可以结合荧光表达和标记基因等技术手段，以更全面地评估所编辑的基因对细胞的影响。

1.2.4 高通量测序与生信分析 从筛选出的特定细胞群中提取基因组 DNA，然后针对 sgRNA 的靶向区域进行聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR)，以确保这些区域的 DNA 片段得到足够的数量，便于后续的高通量测序分析^[18]。完成 PCR 扩增后，对扩增产物进行高通量测序，统计各个 sgRNA 的相对丰度。通过对比筛选前后的 sgRNA 丰度变化，来判断 sgRNA 靶向基因与特定表型之间的关系。

1.2.5 验证候选基因 用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术得到候选基因以后，需要进一步验证才能鉴定出调控特定表型的功能基因。具体方法：首先要进行脱靶分析，由于 CRISPR/Cas9 系统可能会在非目标位点进行切割导致脱靶效应，如果脱靶位点在外显子内，可能会干扰对候选基因的判断，产生假阳性结果；其次要进行单个基因敲除验证，通过构建敲除细胞系，对候选基因进行单个细胞敲除来检测细胞的表型变化，如细胞增殖、凋亡、形态、代谢等方面的变化，以确定候选基因对细胞功能的影响；最后，还可以进行遗传互补试验、功能恢复试验、RNA 水平验证、蛋白质水平验证如蛋白质免疫印记 (Western Blot, WB)、免疫荧光等技术来进一步验证该基因的功能^[20]。具体筛选流程如图 1 所示。

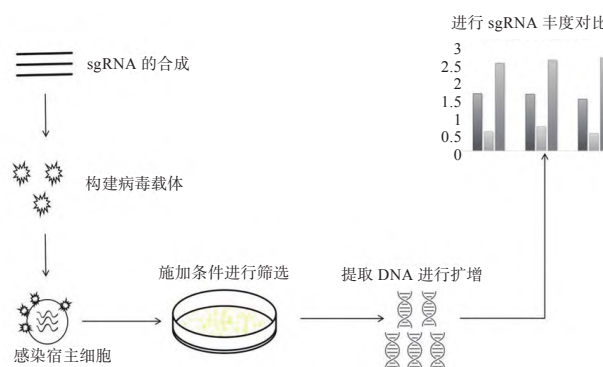


图 1 CRISPR/Cas9 文库筛选流程图

1.3 CRISPR/Cas9 文库类型 目前，功能基因文库筛选主要包括 3 种：cDNA 文库、RNA 干扰 (RNAi) 文库和 CRISPR/Cas9 基因编辑文库；根据不同的研究目的划分，又可以分为基因功能获得法 (Gain-Of-Function, GOF) 和基因功能缺失法 (Loss-Of-Function, LOF)^[21]。CRISPR/Cas9 技术既可以通过诱导基因突变进行 LOF 筛选，又可通过激活转录进行 GOF 筛选，不仅可以作用于基因编码区，还可以靶向基因非编码区，与 RNAi 技术相比具有相对较低的脱靶效率和更广泛的作用位

点，因而逐渐成为高通量基因筛选的主要策略。

一般将 CRISPR/Cas9 文库分为 3 种：CRISPR/Cas9 敲除文库、CRISPR/Cas9 激活文库、CRISPR/Cas9 抑制文库^[22]，如表 1 所示。

1.4 CRISPR/Cas9 文库的应用场景 随着测序技术和生物信息学的飞速发展，对代谢、免疫相关机制的研究已经由单个基因或通路研究发展为高通量、互作网络式研究^[23]。近年来，随着全基因组 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的发展，也进一步促进了高通量基因筛选和基因功能的研究。

目前 CRISPR/Cas9 文库筛选技术已广泛应用于病毒感染宿主因子鉴定、癌症治疗靶点筛选等多个医学领域，同时在动物疾病控制和遗传育种领域也展现出巨大潜力。例如通过 CRISPR/Cas9 文库，可以在人体细胞上筛选与癌症相关的宿主基因，陈晨等^[24]在人急性单核白血病细胞系 *THP1* 上构建 CRISPR/Cas9 人类全基因组慢病毒文库，并对肿瘤组织进行深度测序以及数据分析，最终揭示了 *THP1* 细胞成瘤能力可能与某些促癌基因的敲除有关，这一研究不仅验证了 CRISPR/Cas9 文库筛选技术在疾病诊疗及肿瘤相关基因发现中的有效性，更为精准医疗与基因治疗领域的发展提供了有力支持。

此外，CRISPR/Cas9 文库在动物研究中也发挥着重要作用，尤其是疾病相关基因的探究。郑凯杰等^[25]运用小鼠全基因组 CRISPR/Cas9 敲除文库，针对影响非小细胞肺癌形成的宿主基因进行了深入筛选，最终鉴别出 *PTEN*、*CDKN2A* 和 *NF2* 等肿瘤抑制基因。这些研究都侧面证明了 CRISPR/Cas9 文库筛选技术是一种可靠的技术手段，在医学和畜牧学研究中都有广泛的应用前景。

2 CRISPR/Cas9 文库筛选在畜禽研究中的应用

2.1 CRISPR/Cas9 文库筛选在猪上的应用 猪肉是中国人均消费最多的肉类食品^[26]，猪的育种改良与疾病防控不仅关乎国民经济，还是肉类食品安全的关键。此外，猪作为重要的试验模式动物，在病毒感染宿主因子研究及癌症治疗探索中发挥了不可替代的作用，取得了显著成果。

在猪的育种方面，利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术能够精确鉴定猪基因组中的抗病基因，为定向改良猪只、增强其抗病力提供了可能。例如，利用猪全基因组 CRISPR/Cas9 敲除文库筛选出猪流感病毒（Swine Influenza Virus, SIV）复制必需宿主基因（如 *SLC*、*R6* 等），揭示其如何通过调控病毒入侵、复制等关键环节抑制病毒增殖，该技术为猪抗病育种提供了靶点，推动了利用基因编辑技术培育抗 SIV 猪种的发展，突破传统育种瓶颈，为培育抗 SIV 感染的基因编辑猪提供理论依据^[27]；通过 CRISPR/Cas9 文库筛选技术还可以筛选出猪流行性腹泻病毒（Porcine Epidemic Diarrhea Virus, PEDV）的宿主基因，张雪等^[28]基于 CRISPR/Cas9 系统构建了人肝癌细胞系 Huh-7 的全基因组敲除文库，用于筛选影响猪流行性腹泻病毒复制的关键宿主因子，最终发现 *ITGA11* 基因可作为一种制备抗 PEDV 猪种潜在的靶基因，为猪的抗病育种提供了新策略；此外，为了充分利用 CRISPR/Cas9 文库筛选在基因组编辑中的价值，Zhou 等^[29]设计并构建了猪全基因组 CRISPR/Cas9 文库，通过广泛筛选，初步锁定 140 个与猪流感病毒复制相关的候选基因。经二级文库深入筛选，最终鉴定出高尔基体复合体蛋白 COG8 为流感病毒

表 1 CRISPR/Cas9 文库类型及其原理

文库类型	原理
CRISPR/Cas9 敲除文库	主要原理是移码突变，当 sgRNA 与目的 DNA 片段完全互补配对后，Cas9 蛋白在 PAM 序列上游切断靶 DNA 形成断裂双链，然后细胞的 DNA 修复系统开始工作：当无同源模板时，断裂双链通过非同源末端连接途径重新连接（该过程容易产生突变）。如果发生移码突变，表达异常的 mRNA 和蛋白质最终就会被降解，即发生基因敲除；如果存在同源修复模板时，断裂双链通过同源模板直接修复，将修复模板重组进入断裂部位
CRISPR/Cas9 激活文库	基本原理是将 Cas9 蛋白催化失活变成 dCas9 蛋白与 sgRNA 结合形成“DNA 阅读器”发挥精确定位功能。基于 dCas9 的激活系统包括 2 种：一种是 dCas9/sgRNA 与转录活化蛋白形成促转录复合体，另一种是 dCas9 与表观遗传修饰酶形成融合蛋白质，通过调节启动子或增强子区 DNA 甲基化或组蛋白乙酰化促进基因转录，然后在 sgRNA 引导下精确定位到靶基因启动子区，促进转录。CRISPR/Cas9 激活文库通常用于研究基因和非编码 DNA 功能、病毒和耐药靶点筛选等
CRISPR/Cas9 抑制文库	原理同 CRISPR/Cas9 激活文库类似，包括 2 种系统：一种是 dCas9 蛋白与 KRAB 结构域形成沉默蛋白复合体 dCas9-KRAB，在 sgRNA 引导下精确定位到靶基因启动子或增强子区，将组蛋白甲基化，形成异染色质，抑制转录；另一种是 dCas9 与去甲基化酶 3a 融合形成 dCas9-Dnmt3a 促进 DNA 甲基化，抑制转录。CRISPR-dCas9 抑制文库可用于揭示编辑基因和非编码基因的 DNA 序列的功能、筛选基因互作、开发肿瘤药物等

感染的关键调控因子, 彰显了 CRISPR/Cas9 文库筛选在病毒学研究中的巨大潜力, 同时也证明了建立猪全基因组 CRISPR/Cas9 文库筛选在猪的遗传筛选中具有极其重要的应用价值, 它不仅为猪抗病育种的研究提供了宝贵的参考, 有助于揭示宿主细胞在抗病毒感染过程中的作用机理, 还加速了猪重要性状改良和分子定向育种的步伐, 推动了分子定向育种技术的快速发展^[30]。

在猪的疾病防治方面, 通过 CRISPR/Cas9 文库筛选技术除了可以研究猪体内常见的病毒外, 猪作为重要的试验动物模型, 还能够深入研究一些人畜共患病, 从医药方面无法解决的一些疾病问题可以从基因方面找到答案。例如, 乙脑病毒 (Japanese Encephalitis Virus, JEV) 是一种蚊媒人畜共患病毒, 可在哺乳动物中引起脑炎和生殖障碍, 然而对其如何进入细胞、如何复制和组装的主要宿主因子了解甚少, 赵长智^[31]和 Liu 等^[32]利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术在猪全基因组范围内成功筛选出 10 个关键靶基因, 这些基因参与硫酸肝素蛋白多糖的生物合成与代谢, 对乙脑病毒复制有显著抑制作用。进一步试验确认其中 4 个基因在敲除后能明显阻碍 JEV 在猪细胞内的复制, 这也揭示了它们能够促进病毒入侵的机制, 为开发针对乙脑病毒疾病的医疗与育种技术提供了新方法。在冠状病毒方面, 自 1937 年首次从禽类分离出冠状病毒以来, 已经发现的冠状病毒有近 40 种之多, 其中已经报道的猪冠状病毒也多达 6 种, 可引发不同的猪冠状病毒病, 给养猪生产造成严重影响^[33]。其中猪 δ 冠状病毒 (Porcine Deltacoronavirus, PDCoV) 是近几年在猪肠道冠状病毒家族中新发现的病毒^[34], 主要会引起新生仔猪腹泻、呕吐、脱水甚至死亡, 严重影响猪生产性能的提高和养猪业的进步。Wang 等^[35]和王晶^[36]利用猪全基因组范围的 sgRNA 慢病毒文库研究, 对 PDCoV 感染相关的宿主因子进行筛选, 并发现了 *TMEM41B*、*SLC35A1*、*SNX10*、*VOPPI*、*PCSK6* 基因敲除后对 PDCoV 的增殖有显著的抑制作用, 其中以敲除 *TMEM41B* 的作用最为明显, 进一步研究发现 *TMEM41B* 可能是一个泛冠状病毒宿主因子, 敲除后可显著抑制猪新型甲型冠状病毒、猪传染性胃肠炎病毒、鼠肝炎病毒和猪流行性腹泻病毒的增殖, 这项研究不仅对发掘 PDCoV 的潜在抗病毒药物具有重要意义, 而且在有效控制猪 PDCoV 感染及保障人类健康方面展现出深远价值。

此外, 还有哺乳动物呼肠孤病毒 (Mammalian Orthoreovirus, MRVs)^[37]、流感病毒^[38]、猪瘟病毒 (Classical Swine Fever Virus, CSFV)^[39-40]、非洲猪瘟病毒 (African Swine Fever Virus, ASFV)^[41] 和口蹄疫病毒 (Foot - and - Mouth Disease Virus, FMDV)^[42] 等都对养猪业构成了严重威胁。在此背景下, 研究者们利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术探索这些病毒的致病机制、寻找有效的防控策略, 为如何解决疾病、保障人畜安全, 开辟了全新的路径。例如: 曹婉怡等^[43]成功筛选出与 MRVs 感染相关的候选基因, 如 *F11R* 受体基因, 为抗病毒药物研发提供了理论支持; 崔欢等^[44]和王萍萍等^[45]则利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术发现了 H7N9 流感病毒感染的关键宿主因子 *CYTH2*, 揭示了病毒感染机理; 孙慧敏等^[46]通过 CRISPR/Cas9 文库筛选技术, 识别出 CSFV 复制过程中的关键候选基因, 为疫苗研发提供了精准靶标; Dixon 等^[7]鉴定出 ASFV 复制所需的潜在宿主因子 *TMEM239*, 为 ASFV 疫苗研发开辟了新途径。Semler 等^[47]则证实了 *TOBI* 基因是猪口蹄疫病毒感染的关键宿主因子, 填补了病毒与宿主相互作用机制的知识空白。这些研究不仅加深了病毒与宿主之间的相互作用机制的理解, 还为开发新型抗病毒药物、疫苗以及实施抗病育种策略提供了强有力的工具, 为畜牧业健康发展和公共卫生安全提供了有力保障。CRISPR/Cas9 文库筛选技术的广泛应用, 展示了其在猪疾病防治领域的巨大潜力。

综上所述, CRISPR/Cas9 文库筛选技术在猪遗传育种以及抗病防治领域均展现出重大的应用价值。借助这一先进技术, 能够精准地解决一系列基因相关难题, 从而极大地深化了人们对于猪只性状在基因层面的表现特征及其复杂调控机制的理解与认识。

2.2 CRISPR/Cas9 文库筛选在牛上的应用 牛是一种生长周期长、繁殖效能低但具有极大肉用或乳用潜能的畜禽类型, 但由于其育种改良进程比较缓慢, 因此研究人员利用现代分子育种新技术结合常规育种手段来进行牛的育种^[48], 而 CRISPR/Cas9 文库筛选技术为奶牛和肉牛品种的选育和疾病防控提供了新的手段。

在牛的遗传育种方面, 张文广等^[23]构建了牛全基因组 CRISPR/Cas9 敲除文库, 并筛选鉴定出 9 个与 β 羟丁酸 (BHBA) 代谢紧密相关的候选基因, 这些基因可作为药物筛选、标记辅助管理的分子标记或制备基因

编辑抗病动物模型的分子靶点,为牛遗传育种提供了重要的分子标记资源。此外,该试验首创性的发明了一种牛全基因组编码基因 CRISPR-Cas9 文库的构建方法,构建了牛肾上皮细胞全基因组敲除细胞库,该细胞库为深入探索牛酮体代谢调控机制及病毒感染相关基因功能搭建了新的研究平台,标志着反刍动物遗传研究步入新的阶段。CRISPR/Cas9 文库筛选技术不仅在代谢相关基因研究中展现出强大的筛选能力,而且在牛育种中对肌肉生长关键基因的精准把控体现出巨大潜力。Wang 等^[49]通过敲除 *MSTN* 基因,提升了肉牛的肌肉质量和生长速度,进而增加牛肉产量、提升肉质并降低了饲料消耗。

在牛的疾病防控方面,郝晋杨等^[50]成功建立了牛全基因组 CRISPR/Cas9 敲除文库,可快速挖掘出重要病原微生物与宿主互作的关键基因,为以后将牛全基因组敲除文库应用到牛相关病原微生物关键宿主因子的筛查和牛疫病防控提供了理论支持。此外,CRISPR/Cas9 文库筛选技术在对抗病毒感染的研究中也展现出重要价值,例如: Tan 等^[51]利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术高通量筛选牛全基因组,成功鉴定出与 1 型牛疱疹病毒复制相关的关键宿主基因,如 *PVR*、*PVRL2* 等,这些发现不仅揭示了病毒进入细胞和复制的机制,还为开发抗病毒疫苗提供了理论支持。通过敲除这些基因,还可以增强宿主的抗病毒能力,推动抗病育种和疫苗研发。

综上,CRISPR/Cas9 文库筛选技术为理解病毒复制策略及制定防控措施提供了革命性工具,能够提升牛遗传育种的精准性和效率,也为牛的抗病育种和疫苗研发提供了理论依据。

2.3 CRISPR/Cas9 文库筛选在羊上的应用 羊是一种常见的经济动物,在社会生产中发挥着至关重要的作用,为了满足人类的不同需求培育出许多功能不同、适应性不同的山羊、绵羊品种,如:肉用、毛用、乳用、药用品种^[52]。随着基因编辑技术的蓬勃发展,羊的遗传育种和疾病防控也朝着更精准更多元的方向进步。

在羊的遗传育种方面,基于 CRISPR/Cas9 文库筛选技术可实现多靶点的基因组编辑,同时在基因功能的鉴定方面,该技术也可以实现对细胞耐药性、细胞增殖等相关基因的筛选。例如:绒山羊的毛囊发生与发育涉及众多关键基因,为了弄清其主要功能基因及其互作网络,高晔^[53]利用 CRISPR/Cas9 文库筛选、KEGG 分析

等方法筛选鉴定出影响胎儿期绒山羊毛囊发育的关键基因,并成功构建了 9 个 gRNA 文库,最终发现绒山羊胎儿期 *VDR* 基因对毛囊发育成熟有重要作用,为绒山羊毛囊周期性生长调控并进行遗传改良奠定理论基础;此外,CRISPR/Cas9 文库筛选还可以对细胞增殖的相关基因进行筛选,例如:李岚^[54]利用 CRISPR/Cas9 文库在陕北白绒山羊毛乳头细胞中进行基因筛选,进而鉴定毛乳头细胞增殖的必需基因,最终成功筛选出 202 个差异基因,然后通过进一步的 GO 富集分析以及 KEGG 分析,发现了 *SBDS*、*HJURP* 和 *FNDCC5* 基因都参与了绒山羊毛乳头细胞的增殖过程,且 *SBDS* 和 *HJURP* 基因对毛乳头细胞的增殖具有正向的调节作用,*FNDCC5* 基因对毛乳头细胞增殖有负向的调节作用。这一发现不仅揭示了绒山羊毛乳头细胞增殖的必需基因,还为未来通过基因编辑技术改良山羊绒品质和产量提供了宝贵的基因资源。

在羊的疾病防控方面,羊身上有一种常见的疾病—布鲁氏菌病,是由布鲁氏菌引起的人畜共患病,具有较强的传播性,造成母畜流产、不孕,公畜睾丸炎等,严重影响畜牧业发展^[55]。因此,Xu 等^[56]通过羊全基因组 CRISPR/Cas9 文库筛选技术,研究受布鲁氏菌感染对细胞活力影响最大的宿主基因,通过筛选发现敲除基因 *GOLGA6L6*、*DEFB103B*、*OR4F29* 和 *ERCC6* 会减弱宿主细胞和细胞内布鲁氏菌的活力,表明这些基因是控制布鲁氏菌的潜在治疗靶点,尤其是敲除 *DEFB103B* 基因,会改变宿主细胞的自噬作用,降低布鲁氏菌细胞内存活的效率。该研究不仅鉴定出与布鲁氏菌感染相关的宿主基因,开辟了布病治疗的新路径,也证明了 CRISPR/Cas9 文库筛选技术在羊上具有极大的研究潜力和应用价值。

2.4 CRISPR/Cas9 文库筛选在鸡上的应用 鸡作为卵生动物,具有独特的生殖特点,相比其他的畜禽,鸡繁殖能力强、性成熟快、生命周期短且成年后法氏囊退化,其受精卵紧密连接在卵黄表面,因而不能通过核移植技术高效地获得基因修饰的个体^[57-58]。近年来,随着基因组编辑技术的不断发展,人们对基因认识的不断加深,CRISPR/Cas9 文库筛选技术在鸡遗传育种和抗病研究中取得了一定的研究进展。

在鸡的遗传育种方面,CRISPR/Cas9 文库筛选技术在解析集约化养殖场中影响生产性能的关键基因方面展现出巨大潜力。例如,匍匐表型是鸡中特有的一种矮

小表型, 主要特征为胚短身矮、翅膀短小, Jin 等^[59]利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术、超深度测序和广泛分析等方法确定了导致该表型的致病基因 *IHH*, 该基因的缺失是导致鸡匍匐表型的致变基因, 这为后续解决该疾病提供了基因基础; Zuo 等^[60]和 Zhang 等^[61]利用 CRISPR/Cas9 文库筛选、体外诱导试验等方法发现了鸡的 *Stra8* 和 *CIEIS* 基因, 这 2 个基因可以阻止胚胎干细胞转化为雄性生殖细胞, 为产蛋种鸡的育种研究提供了新的参考。从实践角度来看, 这些基因的发现为育种工作者提供了精准的遗传标记, 有助于他们通过基因编辑等现代生物技术手段, 针对性地优化鸡的生产性能, 提高养殖效益。

在鸡的疾病防治方面, 新城疫病毒 (Newcastle Disease Virus, NDV) 是养禽业的重大威胁病毒之一, 具备在多种细胞中高效复制的能力, 还能对宿主先天性免疫进行调节, 诱导产生高水平干扰素, 但其感染的关键宿主因子尚不明确。徐娟^[62]利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术, 构建了鸡成纤维细胞系全基因组敲除文库, 并进行了 CRISPR/Cas9 文库筛选以及高通量测序分析, 最终筛选到 10 个可能的基因, 初步确定了影响 NDV 感染的相关宿主因子, 为未来疫苗研发和疾病防控提供理论依据; 此外, 在鸡上还有一种重大传染病—鸡滑液囊支原体病, 该病是由鸡滑液囊支原体 (*Mycoplasma Synoviae*, MS) 引发的一种传染病, 主要感染鸡和火鸡, 可以经蛋传播给子代, 该病可以引起上呼吸道感染、关节炎和传染性滑膜炎的发生, 导致生长发育迟缓及胴体降级, 甚至会降低免疫力, 给养殖业带来巨大的经济损失^[63]。为了深入探究其致病机制, 孙佳琳^[64]构建了 MS 基因组表达文库, 并进行了 MS 感染试验, 利用文库筛选最终筛选出了与 MS 感染相关的 17 个 MS 体内诱导基因, 为后续的进一步深入研究提供参考, 也为设计抗 MS 药物提供了新的靶标。

3 总结与展望

近年来, 随着生物技术的飞速发展, 全基因组测序技术的广泛应用为畜禽科学研究开辟了新的篇章。科学家们已成功构建了包括猪、鸡、牛、羊等多种重要畜禽的全基因组文库, 这些文库的建立不仅为深入解析畜禽遗传信息提供了宝贵的资源, 更为畜禽育种、疾病防控等领域的进步奠定了坚实的基础。其中 CRISPR/Cas9

文库筛选技术以其高效、精确的特点, 在畜禽研究中展现出了非凡的潜力和广阔的应用前景。

在抗性基因筛选方面, 科研人员利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术, 成功筛选出了与多种畜禽病原体相关的抗性基因。例如, 针对猪流感病毒、猪瘟病毒、日本乙型脑炎病毒等畜禽重要疾病, 科研人员通过构建 CRISPR/Cas9 文库, 实现了对这些病原体抗性基因的精准筛选和鉴定。这些抗性基因的发现, 不仅为畜禽疾病的防控提供了新的思路和方法, 更为畜禽养殖业的可持续发展提供了有力保障。

在重要性状关键因子的挖掘方面, CRISPR/Cas9 文库筛选技术同样展现出了强大的优势。通过该技术, 科研人员成功挖掘出了控制畜禽生长速率、肉质等重要性状的关键遗传因子。例如, 在羊毛乳头细胞增殖的研究中, 科研人员利用 CRISPR/Cas9 文库筛选技术, 成功鉴定出了控制羊毛乳头细胞增殖的必需基因, 为优化羊毛品质和产量提供了新的途径; 控制鸡匍匐表型的致变基因的挖掘, 为鸡只的遗传改良提供了可能。这些关键因子的发现, 不仅为畜禽育种提供了精准的遗传标记, 更为通过基因编辑技术培育优良品种提供了可能。

然而, 随着人们对基因编辑技术的深入了解, 也揭示了在畜禽生产领域使用基因编辑、文库筛选等技术所带来的诸多问题。首先是基因编辑技术本身存在的问题, 如脱靶效应、DNA 切口修复的不确定性、插入片段的概率性问题^[65]等, 这些都对 CRISPR/Cas9 文库筛选造成了一定的影响。其次, 对于国民认可度和思想普及性而言, 基因编辑技术仍未被大量民众所了解, 基因编辑所产生的负面影响, 部分民众对食品安全和生物安全的担忧加深, 给技术进步和生产应用带来了舆论负担。最后是目前科学界对于 CRISPR/Cas9 文库筛选技术的应用程度还不够全面, 研究人员尚未充分将 CRISPR/Cas9 文库筛选技术整合到自己的研究领域中去, 该技术所展现的旺盛生命力还有待继续挖掘与应用。

不过, 这些问题并非无计可施, 通过优化基因编辑系统、设计多条 sgRNA 以及加大后期验证力度等可以弥补基因编辑系统自身存在的问题。除了技术层面的优化和改进, 科学工作者应当积极地向民众科普相关技术问题, 提高公众对基因编辑技术的认知和理解。同时, 政府应出台相应法律条款来规范转基因食品、转基因动物或基因编辑动植物的生产和应用, 切实保障国民健康

安全以及科学技术的合理应用。

此外, 尽管 CRISPR/Cas9 敲除文库已在畜禽基因功能筛选与育种靶点挖掘中取得显著进展, 但针对激活文库和抑制文库的系统性研究仍处于探索阶段。主要原因在于现有的研究多聚焦于单一基因编辑, 缺乏对多基因协同调控网络的系统性探索, 而激活文库和抑制文库在解析基因剂量效应、表观遗传互作等方面具有独特优势^[66-67]。

但是, 随着生物技术的不断发展, 基因组学(如畜禽单细胞图谱、三维染色质互作数据)与合成生物学工具(如模块化 dCas9 效应器、可诱导调控系统)的深度融合, 可以构建物种特异性激活、抑制文库, 并开发适配畜禽模型的高通量功能筛选平台^[68-69]。随着 AI 技术和机器学习的加入和发展, 未来人类可能利用文库筛选和基因编辑手段找到解决癌症等复杂疾病的治疗之方, 揭示肿瘤发生的规律和内在机制。在畜禽研究方面, CRISPR/Cas9 文库筛选技术的广泛应用将推动动物育种全面进入基因育种阶段。通过精准控制基因变异类型和最终结果表现, 科研人员可以大大缩短育种时间, 提高育种效率。同时, 从基因水平上克服动物疾病也将成为可能, 为畜禽养殖业的可持续发展提供有力保障。可以预见, 在不久的将来, 畜禽生产将进入一个全新的时代, 人类将得到更多健康、优质的畜禽产品。

参考文献:

- [1] Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, *et al.* CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes[J]. *Science*, 2007, 315(5819): 1709-1712.
- [2] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, *et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity[J]. *Science*, 2012, 337(6096): 816-821.
- [3] Grissa I, Vergnaud G, Pourcel C. The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats[J]. *BMC Bioinformatics*, 2007, 8(1): 172.
- [4] Zhu X X, Zhan Q M, Wei Y Y, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated MSTN disruption accelerates the growth of Chinese Bama pigs[J]. *Reprod Domest Anim*, 2020, 55(10): 1314-1327.
- [5] Crispo M, Mulet A P, Tesson L, *et al.* Efficient generation of myostatin Knock-Out Sheep using CRISPR/Cas9 technology and microinjection into Zygotes[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136690.
- [6] Lyall J, Irvine R M, Sherman A, *et al.* Suppression of avian influenza transmission in genetically modified chickens[J]. *Science*, 2011, 331(6014): 223-226.
- [7] Dixon L K, Shen D, Zhang G, *et al.* A genome-wide CRISPR/Cas9 knockout screen identifies TMEM239 as an important host factor in facilitating African swine fever virus entry into early endosomes[J]. *PLoS Pathogens*, 2024, 20(7): e1012256.
- [8] Khwatenge C N, Nahashon S N. Recent advances in the application of crispr/cas9 gene editing system in poultry species[J]. *Front Genet*, 2021, 12: 627714.
- [9] Geisert R D, Johns D N, Pfeiffer C A, *et al.* Gene editing provides a tool to investigate genes involved in reproduction of pigs[J]. *Mol Reprod Dev*, 2023, 90(7): 459-468.
- [10] Shalem O, Sanjana N E, Hartenian E, *et al.* Genome-scale CRISPR-Cas9 knockout screening in human cells[J]. *Science*, 2014, 343(6166): 84-87.
- [11] Park R J, Wang T, Koundakjian D, *et al.* A genome-wide CRISPR screen identifies a restricted set of HIV host dependency factors[J]. *Nat Genet*, 2017, 49(2): 193-203.
- [12] Verheul T C J, Gilleman N, Putzker K, *et al.* A cellular reporter system to evaluate endogenous fetal hemoglobin induction and screen for therapeutic compounds[J]. *Hemasphere*, 2024, 8(8): e139.
- [13] Hashizume R, Wakita S, Sawada H, *et al.* Trisomic rescue via allele-specific multiple chromosome cleavage using CRISPR-Cas9 in trisomy 21 cells[J]. *PNAS Nexus*, 2025, 4(2): pgaf022.
- [14] Chen Y J, Iyer S V, Hsieh D C, *et al.* Gliocidin is a nicotinamide-mimetic prodrug that targets glioblastoma[J]. *Nature*, 2024, 636(8042): 466-473.
- [15] Thakore P I, DiIppolito A M, Song L, *et al.* Highly specific epigenome editing by CRISPR-Cas9 repressors for silencing of distal regulatory elements[J]. *Nat Methods*, 2015, 12(12): 1143-1149.
- [16] Joung J, Engreitz J M, Konermann S, *et al.* Genome-scale activation screen identifies a lncRNA locus regulating a gene neighbourhood[J]. *Nature*, 2017, 548(7667): 343-346.
- [17] Tanenbaum M E, Gilbert L A, Qi L S, *et al.* A protein-tagging system for signal amplification in gene expression and fluorescence imaging[J]. *Cell*, 2014, 159(3): 635-646.
- [18] 雷婷, 肖斌, 何咏茵, 等. CRISPR/Cas9 文库筛选技术的发展及在肿瘤研究中的应用 [J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39: 1381-1386.
- [19] Pinter T, Fischer M, Schafer M, *et al.* Comprehensive CRISPR-Cas9 screen identifies factors which are important for plasmablast development[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 979606.
- [20] Wang T, Wei J J, Sabatini D M, *et al.* Genetic screens in human cells using the CRISPR-Cas9 system[J]. *Science*, 2014, 343(6166): 80-84.
- [21] 李欢欢, 黄承浩. 基于 CRISPR-Cas9 的功能基因筛选研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2018, 34(4): 461-472.
- [22] 杜欣娜, 戚家峰, 张虎. 基于 CRISPR-Cas9 的筛选文库的类型与应用 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2019, 35(9): 931-938.
- [23] 张文广, 石彩霞, 刘斌, 等. 基于牛全基因组 CRISPR-Cas9 敲除文库、敲除细胞库及筛选目标基因的方法: 中国, CN116356431A[P/OL]. 2025-10-29.
- [24] 陈晨, 郝莎, 白杨, 等. CRISPR/Cas9-sgRNA 全基因组文库筛选人单核细胞白血病功能性促癌/抑癌基因体系的建立

- 与优化[J]. 中国科学: 生命科学, 2016, 46(7): 839-850.
- [25] Chen S, Sanjana N E, Zheng K, *et al.* Genome-wide CRISPR Screen in a mouse model of tumor growth and metastasis[J]. *Cell*, 2015, 160(6): 1246-1260.
- [26] 林挺, 王东奎, 朱增勇. 2023 年猪肉市场分析及 2024 年展望[J]. 今日养猪业, 2024(1): 93-97.
- [27] 肖榕. 利用猪全基因组 CRISPR/Cas9 敲除文库筛选猪流感病毒复制必需宿主基因[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
- [28] 张雪, 范宝超, 赵永祥, 等. 基于 CRISPR/Cas9 系统筛选猪流行性腹泻病毒复制相关基因及其验证[J]. 微生物学通报, 2022(49): 5138-5149.
- [29] Zhou A, Zhang W H, Dong X, *et al.* Porcine genome-wide CRISPR screen identifies the golgi apparatus complex protein COG8 as a pivotal regulator of influenza virus infection[J]. *CRISPR J*, 2021, 4(6): 872-883.
- [30] Zhou A, Li S F, Zhang S J. MiRNAs and genes expression in MARC-145 cell in response to PRRSV infection[J]. *Infect Genet Evol*, 2014, 27: 173-180.
- [31] 赵长志. 猪全基因组 CRISPR/Cas9 敲除文库的构建及筛选病毒抗性关键宿主因子[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.
- [32] Liu H L, Zhao C Z, Xiao T H, *et al.* CRISPR screening of porcine sgRNA library identifies host factors associated with Japanese encephalitis virus replication[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5178.
- [33] 赵晓春, 宋丽, 郭昭林. 猪冠状病毒病的危害及其防治[J]. 畜牧兽医科技信息, 2023(5): 24-29.
- [34] Poranen M M, Mäntynen S. ICTV virus taxonomy profile: Cystoviridae[J]. *J Gen Virol*, 2017, 98(10): 2423-2424.
- [35] Wang X L, Fang L R, Liu S D, *et al.* Susceptibility of porcine IPI-2I intestinal epithelial cells to infection with swine enteric coronaviruses[J]. *Vet Microbiol*, 2019, 233: 21-27.
- [36] 王晶. 宿主因子 TMEM41B 在 PDCoV 增殖中的作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [37] Luo G, Smith S C, Krystofiak E, *et al.* Mammalian orthoreovirus can exit cells in extracellular vesicles[J]. *PLoS Pathogens*, 2024, 20(1): e1011637.
- [38] 成泽. 猪 CYTH2 介导流感病毒内吞机制的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2021.
- [39] 李利山, 刘玉香, 韩斌. 猪瘟疫苗的研究进展[J]. 中国动物保健, 2023, 25(3): 116-118.
- [40] 邹宏, 罗干, 李玲, 等. 猪瘟病毒非结构蛋白 NS4B 与宿主蛋白相互作用的研究进展[J]. 中国兽医杂志, 2023(59): 88-93.
- [41] 王兴祥. 非洲猪瘟临床症状与防治对策[J]. 畜牧兽医科技信息, 2022(10): 140-142.
- [42] 易悦, 王利娜, 徐志文, 等. 猪口蹄疫疫苗的研究进展及其应用[J]. 猪业科学, 2011, 28(2): 44-48.
- [43] 曹婉怡. 猪全基因组 CRISPR 敲除文库的构建及在呼肠孤病毒宿主因子筛选中的应用[D]. 广州: 华南农业大学, 2021.
- [44] 崔欢, 张诚, 张春茂, 等. H7N9 亚型禽流感病毒研究进展[J]. 中国兽医学报, 2020(40): 1871-1875.
- [45] 王萍萍, 郭晶, 李玉保, 等. H7N9 亚型禽流感病毒研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2021(37): 159-164, 70.
- [46] 孙慧敏. 介导猪瘟病毒侵入的功能性受体 CRISPR/Cas9 筛选平台的建立[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [47] Semler B L, Peng G, Liu T, *et al.* A genome-wide CRISPR screening uncovers that TOB1 acts as a key host factor for FMDV infection via both IFN and EGFR mediated pathways[J]. *PLoS Pathogens*, 2024, 20(3): e1012104.
- [48] 曹靖宝, 秦波. 奶牛育种基因标记技术及在黑龙江省应用的前景展望[J]. 中国奶牛, 2009(7): 25-28.
- [49] Wang L M, Ma S, Ding Q, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated *MSTN* gene editing induced mitochondrial alterations in C₂C₁₂ myoblast cells[J]. *Electron J Biotechnol*, 2019, 40: 30-39.
- [50] 郝晋杨. 基于 CRISPR/Cas9 牛肾脏细胞全基因组敲除文库的构建[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2023.
- [51] Tan W S, Rong E, Dry I, *et al.* Validation of candidate host cell entry factors for bovine herpes virus type-1 based on a genome-wide CRISPR knockout screen[J]. *Viruses*, 2024, 16(2): 297.
- [52] Zhou M L, Wang G F, Chen M H, *et al.* Genetic diversity and population structure of sheep (*Ovis aries*) in Sichuan, China[J]. *PLoS One*, 2021, 16(9): e0257974.
- [53] 高晔. 陕北白绒山羊皮肤毛囊发育早期的转录组学分析及 VDR 基因的功能研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [54] 李岚. 利用 CRISPR 文库鉴定绒山羊毛囊头细胞增殖的必需基因研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [55] Godfroid J, Scholz H C, Barbier T, *et al.* Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st century[J]. *Prev Vet Med*, 2011, 102(2): 118-131.
- [56] Xu H L, Lu J J, Huang F, *et al.* A genome-wide CRISPR screen identified host genes essential for intracellular Brucella survival[J]. *Microbiol Spectr*, 2024, 12(4): e0338323.
- [57] 邱桂如, 王政, 何婷婷, 等. CRISPR/Cas9 系统及其在鸡基因组编辑中应用的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2018, 45(6): 1590-1598.
- [58] Zhao R F, Zuo Q S, Yuan X, *et al.* Production of viable chicken by allogeneic transplantation of primordial germ cells induced from somatic cells[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2989.
- [59] Jin S H, Zhu F, Wang Y Y, *et al.* Deletion of Indian hedgehog gene causes dominant semi-lethal Creeper trait in chicken[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 30172.
- [60] Zuo Q S, Jin K, Wang Y J, *et al.* CRISPR/Cas9-mediated deletion of C1EIS inhibits chicken embryonic stem cell differentiation into male germ cells (*Gallus gallus*)[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(8): 2380-2386.
- [61] Zhang Y N, Wang Y J, Zuo Q S, *et al.* CRISPR/Cas9 mediated chicken *Stra8* gene knockout and inhibition of male germ cell differentiation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0172207.
- [62] 徐娟. 基于鸡 CRISPR-Cas9 文库筛选新城疫病毒感染相关宿主因子[D]. 北京: 中国农业科学院, 2022.
- [63] 马爽, 郭莉莉, 宋新宇, 等. 鸡滑液囊支原体感染的流行病学调查与分析[J]. 中国家禽, 2016, 38(23): 68-71.
- [64] 孙佳琳. 鸡滑液囊支原体基因组表达文库的构建及体内诱导基因的筛选与鉴定[D]. 银川: 宁夏大学, 2023.
- [65] 魏宇航. CRISPR/Cas9 脱靶效应产生机制的研究进展[J]. 中外医学研究杂志, 2023, 2(11): 154-156.
- [66] 樊祥瑞, 王俊燕, 梁丽亚, 等. 基于 CRISPR/Cas 系统的多重

- 基因编辑与调控技术[J]. 生物工程学报, 2023(39): 2449-2464.
- [67] Chardon F M, Mcdiarmid T A, Page N F, *et al.* Multiplex, single-cell CRISPRa screening for cell type specific regulatory elements[J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 8209.
- [68] Joung J, Konermann S, Gootenberg J S, *et al.* Genome-scale CRISPR-Cas9 knockout and transcriptional activation screening[J]. Nat Protoc, 2017, 12(4): 828-863.
- [69] Korkmaz G, Lopes R, Ugalde A P, *et al.* Functional genetic screens for enhancer elements in the human genome using CRISPR-Cas9[J]. Nat Biotechnol, 2016, 34(2): 192-198.

CRISPR/Cas9 Library Screening Technology and Its Application in Livestock and Poultry Research

WANG Yinghui^{1,2}, LIAN Zhengxing^{2*}

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Shandong Yantai 264670, China;

2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193)

Abstract: CRISPR/Cas9 gene editing technology has become one of the most popular gene editing technologies due to its advantages of simple operation, high efficiency and accuracy. And it has been widely used in the field of genetic improvement of livestock and poultry. CRISPR/Cas9 library, as an important part of the new generation of gene editing technology, has many applications in solving livestock and poultry breeding, breed improvement, disease control and many other aspects. Especially in the genetic breeding of pig, cattle, sheep, chicken and other livestock and disease prevention research, it has shown great potential. Through the application of CRISPR/Cas9 library screening, the resistance genes related to a variety of viruses and pathogens can be screened, and the key factors to control the growth rate, meat quality and other important traits can be excavated. This paper introduces the basic principle, method process and application type of CRISPR/Cas9 library screening technology, and summarizes the research progress of CRISPR/Cas9 library screening technology on pig, cattle, sheep, chicken and other livestock animals in genetic improvement, disease prevention and control, in order to provide reference for the future exploration of the application value of CRISPR/Cas9 library screening technology.

Keywords: Gene editing; CRISPR/Cas9 library screening; Livestock and poultry breeding; Disease prevention and control

(责任编辑: 石丽丹)

~~~~~  
(上接第 111 页)

## Modulations of Non-coding RNAs on Muscle Growth and Development in Livestock

WEI Yali<sup>1</sup>, FANG Hua<sup>2</sup>, WANG Yongfei<sup>1</sup>, DONG Yu<sup>1</sup>, LI Shun<sup>1</sup>, LIN Zhenghui<sup>3</sup>,  
TUOHITIMAIMAITI-Nuer<sup>3</sup>, ZHANG Yunfeng<sup>1\*</sup>

(1. Kunya Comprehensive Research Institute, Xinjiang Academy of Agricultural Reclamation Sciences, Xinjiang Kunya 848116, China; 2. Kashgar Vocational and Technical College, Xinjiang Kashi 844000, China; 3. Animal Husbandry and Aquatic Development Service Center of the 14th Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Xinjiang Kunya 848116, China)

**Abstract:** The growth rate, muscle yield, and meat quality of domestic animals directly affect the economic benefits of animal husbandry. Therefore, research on skeletal muscle development is significant in livestock production. Recent advancements in sequencing and omics technologies have led to the identification of many non-coding RNAs (ncRNAs) in muscle cells. ncRNAs are RNA molecules that are not involved in the protein translation. They mainly include microRNAs (miRNAs), long non-coding RNAs (lncRNAs), and circular RNAs (circRNAs). These ncRNAs regulate key genes involved in muscle growth and development at the post-transcriptional level. They influence the number and size of muscle cells via multifaceted mechanisms, ultimately determining muscle quality. This review summarizes candidate ncRNAs, including miRNAs, lncRNAs, and circRNAs, that regulate muscle growth and development. It also discusses their related genes, regulatory mechanisms, and signaling pathways. The aim is to provide a theoretical reference for understanding the molecular regulatory mechanisms of ncRNAs in livestock muscle growth and development.

**Keywords:** Muscle growth and development; miRNAs; lncRNAs; circRNAs

(责任编辑: 周会会)