

在SLC01B3中精细化定位调控略阳乌鸡蛋壳颜色的功能性变异

Refine localizations of functional variants affecting eggshell color of Lueyang black-boned chicken in the SLC01B3

项目成员：王雨露、赵艺嘉、孙恺 指导老师：王哲鹏 副教授
(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌712100)

研究背景与意义

颜色均匀的鸡蛋壳对消费者具有视觉吸引力, 并促进了鸡蛋品牌的创建。略阳乌鸡 (LBC) 产下彩色鸡蛋, 为绘制影响蛋壳颜色的功能变异提供了分离群体。与LBC蛋壳颜色有关的SLC01B3中的EAV-HP插入被确定为蓝蛋的致病突变, EAV-HP的缺失意味着一种新的遗传结构可能调节LBC的蛋壳颜色。本试验在SLC01B3基因水平精细定位了调控略阳乌鸡蛋壳颜色的功能突变。为了阐明几个原卟啉代谢基因对略阳乌鸡蛋壳颜色的调控作用, CPOX和ALAS1等基因序列变异关联分析也被包含在本研究中。本项目研究结果有望促进对略阳乌鸡蛋壳颜色遗传基础的认识, 为揭示略阳乌鸡蛋壳颜色遗传基础研究和蛋色选育提纯分子辅助育种方法的建立奠定基础。

材料与方法

SLC01B3基因重测序和SNP调用

计算SNP之间成对的连锁不平衡

对383个样本的标签SNP基因分型

测试标签SNP与LBC蛋壳颜色的关联

SLC01B3基因序列变异对启动子活性的影响

实验结果

SLC01B3重测序和SNP调用结果

对覆盖SLC01B3及其上游1.6 kb区域的**65%**的基因组序列进行了重测序。

Ensembl数据库中有370个变异被注释, 其中**176个**在LBC中有多态性。

10个属于在LBC中发现的新变体。

编码区有**7个**变体, 其中**2个**为错义变体, 另外**5个**为同义变体。

计算SNP之间成对的连锁不平衡

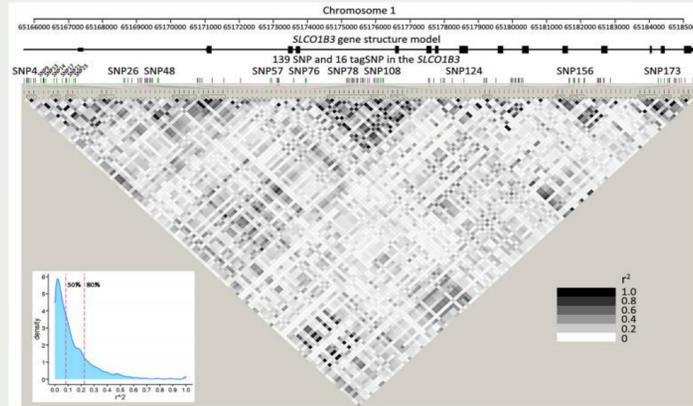


图1 SLC01B3中139个SNP的连锁不平衡。图中的方形表示每2个SNP之间的LD (r^2)强度。LD图上的短竖线表示139个SNP的位置。绿线表示关联分析中使用的16个标签SNP。该图左下角的插图是 r^2 在所有成对SNP之间的密度分布。粉色虚线代表 r^2 的50%和80%分位数。

表1 用于关联分析的标签SNP的位置注释和基因分型结果

名字	描述	dbSNP no.	所在染色体	基因的位置	%geno'	效应等位基因	次要等位基因频率
1B3_SNP4	g.65165817A>G	r113879303	1	promoter	99.5	C	0.391
1B3_SNP9	g.65166191A>G	r314682625	1	promoter	99.7	G	0.425
1B3_SNP13	g.65166330A>G	r115297250	1	promoter	100	G	0.332
1B3_SNP14	g.65166599C>T	r733007481	1	promoter	100	T	0.309
1B3_SNP17	g.65166833T>C	r313542609	1	promoter	99.5	C	0.343
1B3_SNP21	g.65167035C>A	r312678331	1	promoter	96.9	A	0.319
1B3_SNP23	g.65167161T>C	r313015134	1	promoter	100	C	0.376
1B3_SNP26	g.65168696C>G	r314143438	1	Intron1	100	G	0.384
1B3_SNP48	g.65169609A>G	r114837760	1	Intron1	100	G	0.386
1B3_SNP57	g.65172990C>T	r316417448	1	Intron2	100	C	0.454
1B3_SNP76	g.65173964C>T	r3384529440	1	Intron4	100	T	0.274
1B3_SNP78	g.65175138A>G	r313158407	1	Intron4	100	A	0.422
1B3_SNP108	g.65176177A>G	r3384540083	1	Intron4	100	G	0.206
1B3_SNP124	g.65178576C>T	r314188567	1	Exon8	100	T	0.456
1B3_SNP156	g.65181816A>G	r740747550	1	Intron11	100	G	0.366
1B3_SNP173	g.65184357C>T	r316949059	1	Intron13	97.9	C	0.117
CPOX_SNP3	g.85297796A>T	r314360203	1	Promoter	99.7	C	0.457
CPOX_SNP17	g.85297200A>C	r314575915	1	Promoter	100	G	0.240
ALAS1_SNP2	g.3349587A>G	r739114240	12	Exon7	100	A	0.369
ALAS1_SNP3	g.3351494A>G	r315370673	12	Exon7	100	G	0.491
ALAS1_SNP4	g.3352986A>G	r313281405	12	downstream	100	A	0.373
ABCG2_SNP1	g.15378442C>T	r115789613	6	Exon1	100	T	0.359
ABCG2_SNP2	g.18383682A>G	r313341590	6	Exon5	100	A	0.278
ABCG2_SNP3	g.18391548A>T	r114578967	6	downstream	100	A	0.321

所有成对SNP之间的 r^2 中位数为0.085, 80%的 r^2 小于0.226(图1), 这些SNP (n=139) 在LBC中保持较低的LD。

选定的16个标签SNP中有7个分布在SLC01B3上游1.6-kb区域, 其余在基因体中(表1)。在 $r^2 > 0.8$ 时, 这些标签SNP占139个SNP的24%。此外, CPOX、ALAS1和ABCG2中的8个SNP也被纳入关联分析(表1)。

定位与蛋壳颜色相关的功能变异

标签SNPs在几乎所有的383个样本中成功地进行了基因分型, 并进行关联测试(表1)。使用 $L^*a^*b^*$ 颜色空间来量化LBC的蛋壳颜色(图2)



图2 五彩斑斓的略阳乌鸡蛋

a^* 在3个颜色指数中显示出最大的变化, 因为其变化系数远远高于 L^* 和 b^* (表2)。虽个体间的较大差异, 但LBC在个体内保持稳定的蛋壳颜色, 因为观察到3个指标的低样本内标准偏差(表2)。

1B3_SNP108表现出最大的表型效应, 与 a^* 的相关性最强(图3)。

在2个模型中, ALAS1_SNP2和ALAS1_SNP3与 L^* 显著相关(图3)。

表2 关联研究中使用的样本的 L^* 、 a^* 和 b^* 值的描述性统计数据

颜色指数	样本容量	平均值±SD	C.V.	最大值	最小值	四分位数			样本内SD
						25%	50%	75%	
L^*	381	76.2±4.3	5.6%	89.8	63.2	73.5	76.1	79.2	2.8
a^*	381	4.4±3.7	84.1%	14.5	-5.3	1.3	4.5	7.2	0.9
b^*	381	15.8±3.5	22.2%	24.7	4.7	13.4	15.9	18.1	2.0

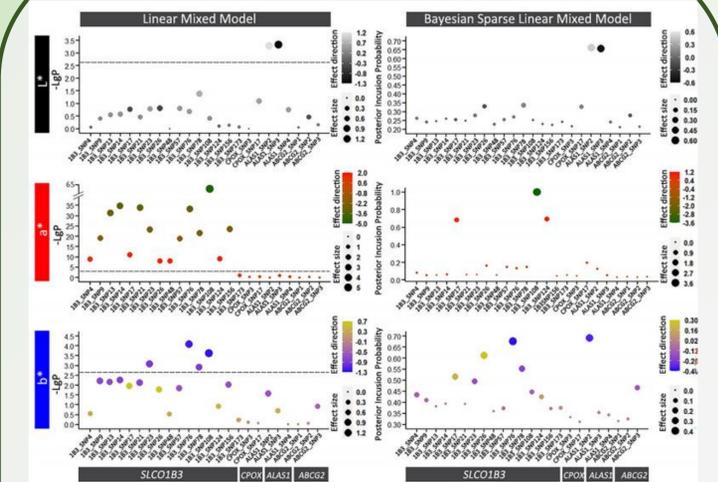


图3 SLC01B3、CPOX、ALAS1和ABCG2中标签SNP与LBC蛋壳颜色 L^* 、 a^* 和 b^* 值的关联采用LMM和BSLMM检验SLC01B3、CPOX、ALAS1和ABCG2中标签SNP与LBC蛋壳颜色 L^* 、 a^* 和 b^* 值的关联。在关联检验图中, 变量的效应大小映射到点的大小。效果方向由点颜色反映。

SLC01B3基因序列变异对启动子活性的影响

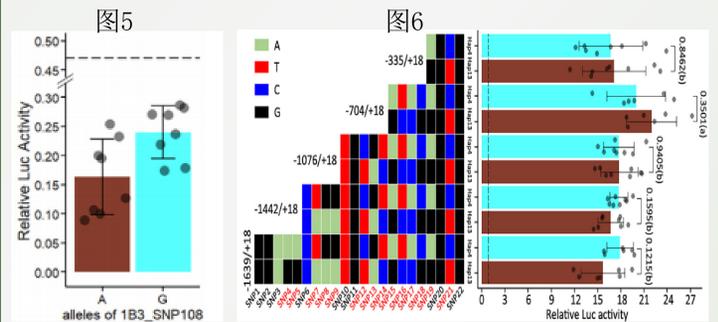


图5: 1B3_SNP108等位基因启动子活性比较。每个柱状图代表8个重复的平均值。虚线表示空pNL1.1质粒荧光素酶的相对活性

图6: 单倍型之间和一系列缺失启动子结构之间启动子活性的比较。

来自关联分析和染色质状态注释的证据支持启动子和邻近1B3_SNP108的区域是包含功能变异的有希望的候选位置。

现阶段成果

本研究将SLC01B3的作用从蓝蛋的致病基因扩展到与鸡蛋壳颜色持续变化相关的主要调节因子。

强关联、低LD和重叠的作图区域和活性增强子支持邻近1B3_SNP108的区域是功能变异的关键位置。1B3_SNP108因其对 a^* 的关联度强、影响大, 是一种有价值的LBC蛋壳颜色育种标记。

致谢

感谢大学生创新创业项目(202310712094)资助



联系邮箱:

luzaigulugulu@163.com