

驴基因组为驯化和毛色选择提供了新的见解

宫亚运

贝瑞基因科技服务部

文章概括

驴基因组为驯化和毛色选择提供了新的见解

Donkey genomes provide new insights into domestication and selection
for coat color

- ◆ 关键词语：驴，基因组，驯化、毛色、群体遗传学
- ◆ 研究单位：山东省农业科学院奶牛研究中心等
- ◆ 发表期刊：Nature Communications
- ◆ 发表时间：2020.12.9
- ◆ 影响因子：12.121

思路设计

- ✓ 1、驴的高质量基因组组装（不是最新的HiFi组装）
- ✓ 2、驴与近缘物种的比较基因组分析（未进行）
- ✓ 3、9个国家的126头家驴、1头非洲野驴和6头亚洲野驴样品的群体重测序
- ✓ 4、驴的种群演化历史
- ✓ 5、比较了深毛色驴和浅毛色驴的基因组数据，通过基因组选择信号分析鉴定了引起驴毛色变化原因
- ✓ 6、毛发染色和免疫组化分析
- ✓ 7、转录组寻找不同毛色驴的差异基因
- ✓ 8、候选基因的验证工作（RT-PCR）
- ✓ 9、驴皮功能和经济价值相关的研究（未涉及）

研究背景

- ❑ 驴是奇蹄目马属动物
- ❑ 人们普遍认为，驴的驯化始于非洲的热带或亚热带地区
- ❑ 驴驯养和传播历史的主要限制之一是缺乏考古遗迹，以及岩画、文字记录或雕刻等其他历史证据
- ❑ 野驴的毛色呈淡灰色(暗褐色表型)，而家养驴的毛色未呈淡黑色或栗色(非暗褐色)
- ❑ 先前的研究表明，极度濒危的努比亚野驴和已灭绝的索马里野驴可能是家养驴的野生祖先。然而，这些发现完全依赖于线粒体DNA变异性的分析，mtDNA只代表母体血统
- ❑ 本研究计划基于全基因组序列数据的群体学方法来阐明驴驯化的历史



材料方法

材料情况

- **基因组材料:** 纯种德州驴
- **重测序材料:** 血液样本 (83头家养驴、2头亚洲野驴)、先前研究报告的 (3头亚洲野驴、1头索马里野驴、1头家驴)、国家基因组数据中心 (42头家驴、1头江驴)

起源进化 重测序

- Illumina HiSeq 4000, PE150
- 平均深度10.9X

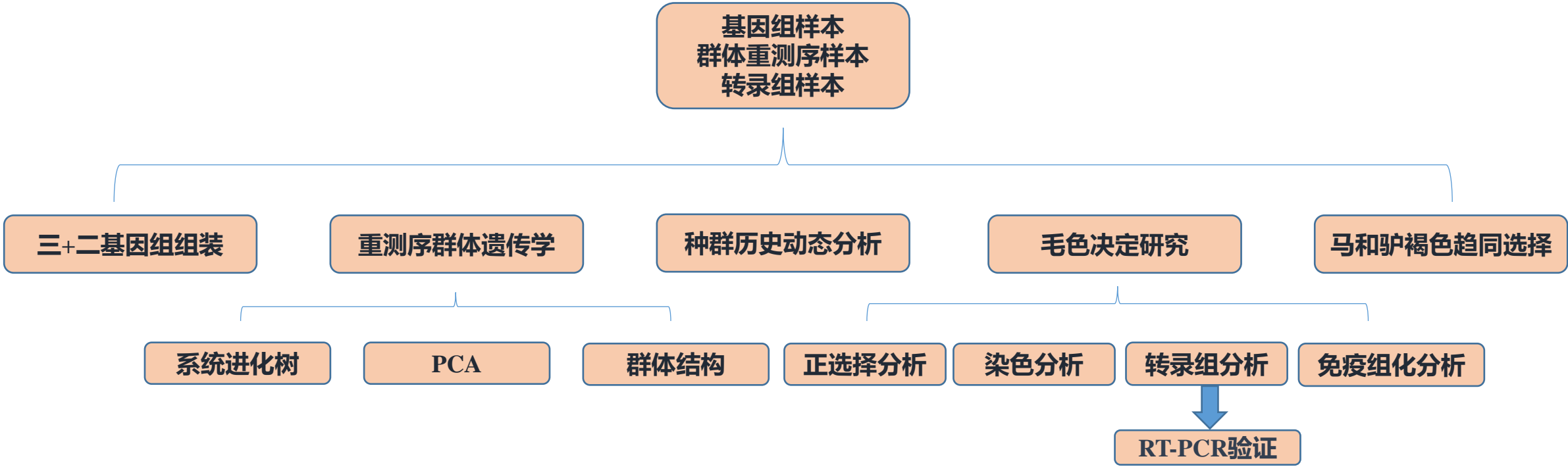
基因组测序

- **二代:** Illumina HiSeq 2000, 9个长度不同的梯度文库
- **三代:** PacBio Sequel, 20K文库, 11个Cell
- **HiC:** BGISEQ-500, 200-400bp文库, PE100测序, 56X

毛色研究

- **基因组:**
不同地理区域的25个褐色驴样本和23个非褐色驴样本
- **转录组:**
山东省黑驴研究所健康非暗褐色毛驴3头
内蒙古自治区的一个农场挑选了3头健康的暗褐色毛驴

技术路线



本研究技术路线

研究结果1——驴的基因组组装和注释

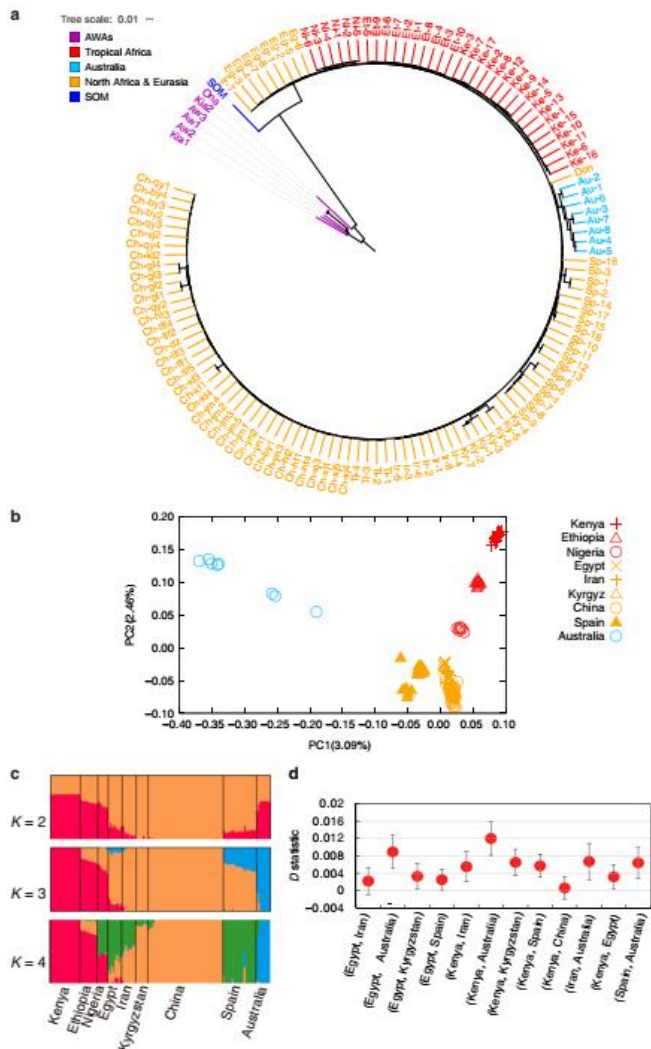
Table 1 Quality metrics for the donkey genome assembly generated in the current work and for other donkey and horse genome assemblies published in previous studies.

	Donkey			Horse	
	This study	Renaud et al. (2018)	Huang et al. (2015)	EquCab3.0	EquCab2.0
Total number of scaffolds	43	9021	2167	4701	9687
N50 contigs	7.92 Mb	140.3 kb	66.7 kb	4.50 Mb	112 kb
N50 scaffolds (Mb)	93.37	15.4	3.8	87.23	46.75
Coverage	211×	61.2×	42.4×	88.0×	6.8×
Total bases (Gb)	2.432	2.320	2.391	2.507	2.475
Largest scaffold (Mb)	209.96	84.20	17.06	-	-
Total number of predicted protein-coding genes	21,983	18,984	23,850	-	20,421

本次研究驴的基因组组装结果

- 构建了德州驴染色体水平的高质量参考基因组图谱
- 该参考基因组用到了二代测序（Hiseq sequencing）、三代测序(PacBio sequencing)和染色体构象捕获技术 (Hi-C)，ContigN50 为 7.92Mb，Scaffold N50 达到 93.37 Mb
- 是目前奇蹄目马属动物中连续性最好的参考基因组

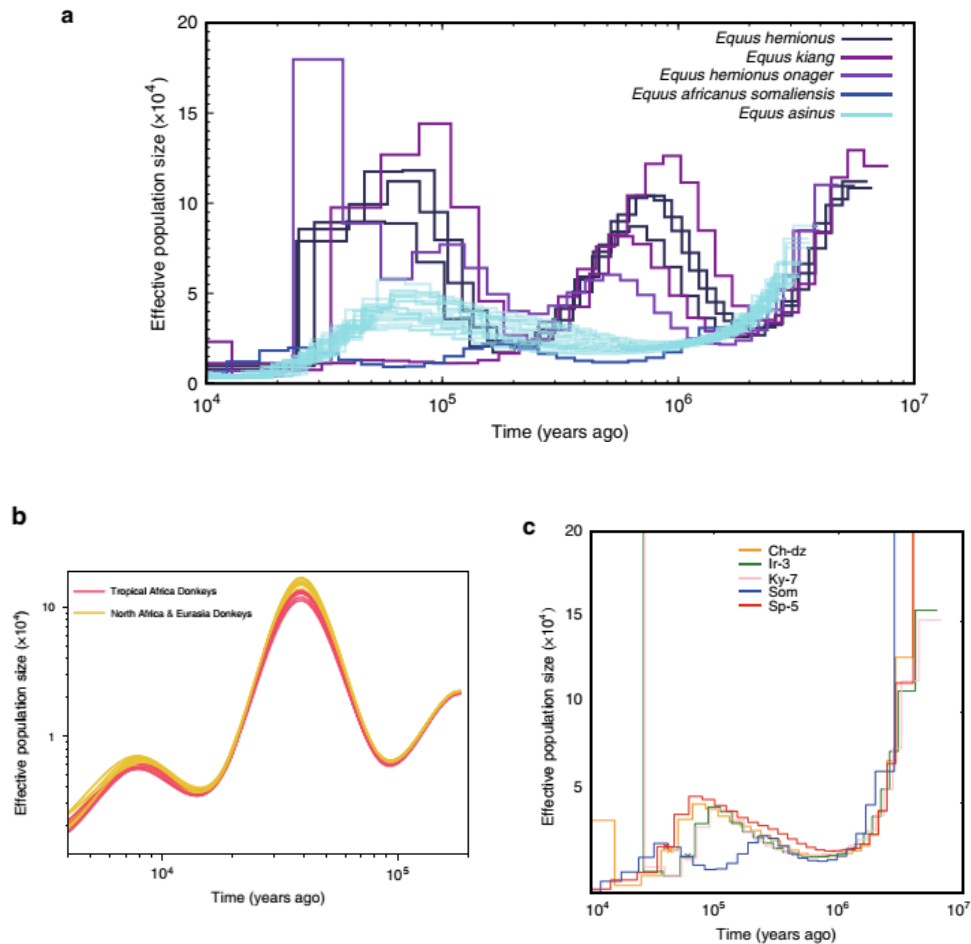
研究结果2——群体遗传学



家驴的种群结构

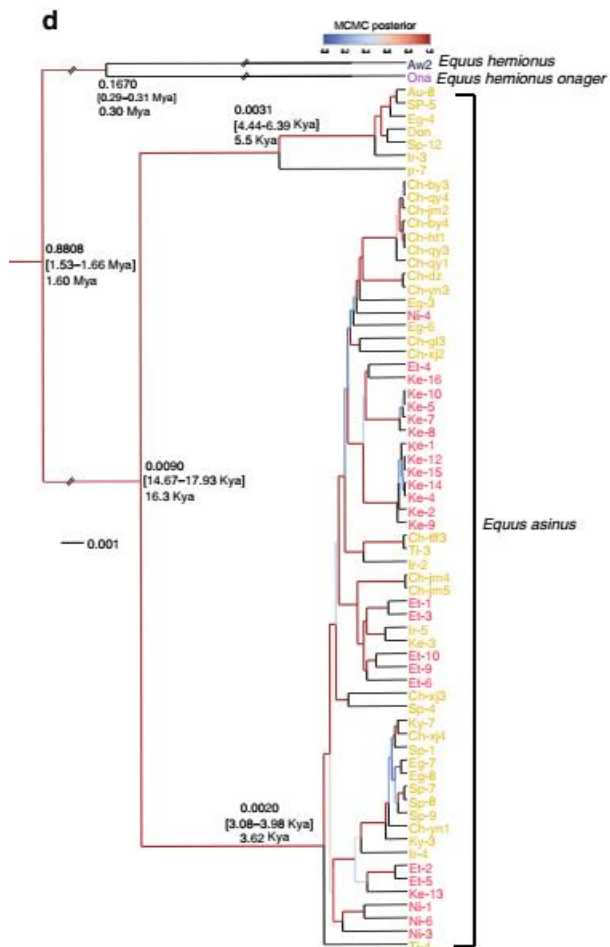
- ❑ 系统发育树 (图1a) 和主成分分析 (PCA) 将133个个体分为两个分支，一个包括所有亚洲野驴，另一个包括非洲野驴和所有家养驴，从而证实了以前的报道，证明家养驴来源于非洲野驴，而不是亚洲野驴
- ❑ 仅家养驴的主成分分析 (图1b) 揭示了三个主要集群：(i) 热带非洲集群 (肯尼亚、埃塞俄比亚和尼日利亚)，(ii) 北非和欧亚大陆集群 (埃及、西班牙、伊朗、吉尔吉斯斯坦和中国)，以及 (iii) 澳大利亚集群，大致对应于它们的大陆分布
- ❑ 用混合方法推断个体祖先系数，以进一步评估种群结构 (图1c)，当K=3时，这也是最佳K值，第三个遗传祖先 (蓝色) 主要出现在澳大利亚驴和西班牙驴中
- ❑ D统计量表明热带非洲组 (包括肯尼亚的驴) 在遗传上比埃及驴更接近非洲野驴，埃及驴比欧亚驴与非洲野驴的亲缘关系更密切 (图1d)，这表明这一结果与非洲驯化驴子并随后传播到欧洲和亚洲相一致

研究结果3——家养驴的有效种群数量与历史相似



- 利用成对序列马尔可夫凝聚（PSMC）模型来推断最新共同祖先（TMRCA）的局部时间，并评估历史有效种群规模（ N_e ）的变化（图2a）。所有家养驴子的曲线混合得很好，说明驯养驴子是最近才发生的事。
- 通过对考古学证据的分析评估，驴大约在7000-9000年前被驯化。此外，利用SMC++软件对热带非洲驴和北非&欧亚驴的人口统计历史进行了推断。这两组驴的 N_e 曲线无法区分（图2b），表明这些驴可能来自于一个共同的祖先群体或至少两个具有相似生物地理特征的祖先群体的驯化。
- 建立了一个基于PSMC的统计模型，从常染色体测序数据中检测家驴祖先物种最新可能的混合事件时间。该模型表明，在家养毛驴的野生祖先物种中发生了约40至60 kya的历史混合事件（图2c），这与用PSMC估计的 N_e 的变化趋势一致（图2a），因为种群分裂和混合事件预计会在历史种群规模上产生一个驼峰。

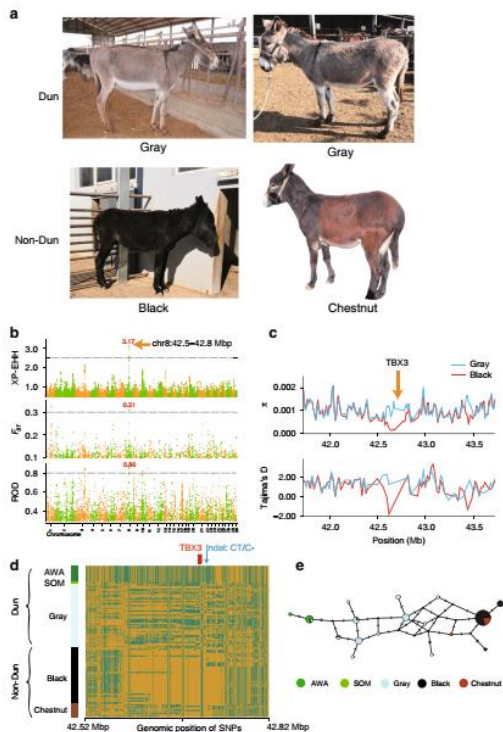
研究结果4——驴有不同的父系和母系的演化史



- 对126个家驴基因组的分析表明，性染色体上的SNP密度显著低于常染色体上的SNP密度。X染色体和Y染色体遗传多样性的显著差异可归因于与突变率、 N_e 、人口统计学和进化选择相关的多种原因。
- 构建了一个雄性驴的系统发育树，并将SNPs映射到Y染色体上（图2d）。这棵树勾勒出野驴和家养驴Y染色体的发散时间。家养毛驴（*E.africanus*）的共同祖先物种分为两个分支，两个分支进一步分裂为不同的驴品种。
- 构建了一个系统发育树，将SNPs定位到所有驴和驴的线粒体基因组，结果与估计的驯化时间一致。
- 根据Y染色体数据（14.67-17.93 kya）估计的非洲祖先物种分裂为两个分支的时间与当前工作中确认的两个线粒体分支（0.303-0.910 mya）的估计发散时间不符。这些结果表明母系和父系驴的演化历史不同。

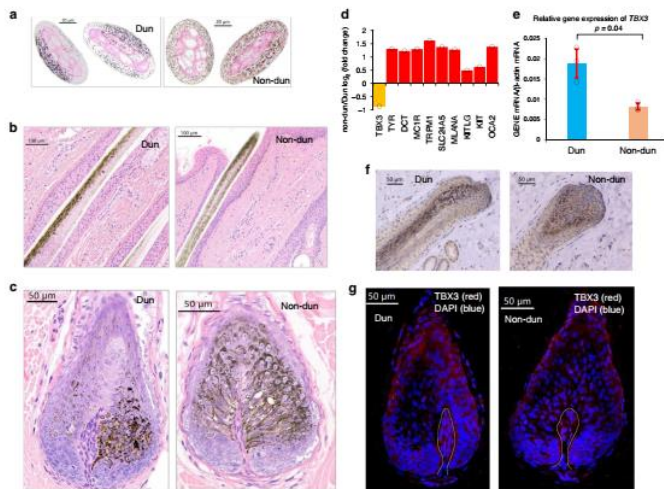
基于野生驴和家驴Y染色体snp的系统发育树

研究结果5——TBX3基因的正选择改变了驴的色素沉着模式



毛驴褐色表型的选择性扫描

褐皮驴和非褐皮驴臀部皮肤的表型特征及差异基因和蛋白表达



- 毛色是驯化过程中选择的主要性状之一。驴灰褐色皮毛被认为是祖先的野生型，而非灰褐色皮毛只在家畜中发现。在这项研究中，比较了自不同地理区域的25个褐色驴样本和23个非褐色驴样本，以确定导致这种染色模式的基因组区域（图3a-3c）
- 研究了毛驴褐色表型的生化基础。苏木精和伊红染色(H&E)对毛发的横切面进行了染色，结果显示，褐色毛驴和非褐色毛驴的毛发色素沉积有差异(图4a)。毛色均匀地分布在非褐皮驴的发皮层中。相反，在黄褐色毛驴的发皮质中，可以观察到色素呈放射状和不对称分布
- 比较了在褐色和非褐色驴中TBX3和其他调节黑素细胞色素生成的基因的表达水平。在差异表达的基因中，发现TBX3 mRNA在非褐色皮肤中下调了1.8倍（图4d），通过定量RT-PCR得到了证实（图4e）
- 为了阐明色素沉积模式与TBX3 mRNA表达的关系，对褐色驴和非褐色驴臀部皮肤切片进行了TBX3表达的免疫组化和免疫组化检测。Dun-croup皮肤切片的免疫组化显示TBX3只在毛囊纵轴的一侧表达，而色素则分布在另一侧（图4f）

研究结果6——马和驴褐色表型的趋同选择



在马身上，褐色表型（也是祖先）的特征是色素沉褐色被认为是为了加强对捕食者的伪装。如前所述，非褐色表型（无颜色稀释）在大多数家养马中占主导地位，这可以通过TBX3基因的调节性突变来解释。在马的非灰褐色皮肤中，TBX3基因的表达也下调。研究检测了几种色素沉着基因在非褐色毛驴皮肤中的上调表达，从而表明马和驴的色素稀释分子机制非常相似。

文章亮点和不足

亮点

01

组装基因组的质量比较高，注释比较全面

02

对于驴的驯化和毛色发生机制研究的比较全面，有一定的验证实验来证实结论，结果有说服力

不足

01

没有加上最新的HiFi测序和HiFi组装技术，且对于驴的驯化历史没有完全厘清，有些结论只是推测

02

群体数量可以再丰富一些，扩大群体来进一步验证结论

Thank You!



官方网站



官方微信