

## 鸡胸腺重和脾脏重性状的全基因组关联

张磊, 郑麦青, 刘冉冉, 文杰, 吴丹, 胡耀东, 孙艳发, 李鹏, 刘丽, 赵桂苹

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所/农业部畜禽遗传资源与种质创新重点实验室, 北京 100193)

**摘要:**【目的】全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 是复杂性状和疾病相关基因定位的新策略。【方法】试验利用鸡 60K SNP 芯片对来自 50 个公鸡家系的 728 只北京油鸡进行 SNP 分型检测, 采用全基因组关联分析方法对影响 100 日龄胸腺重和脾脏重的基因进行定位研究。【结果】结果发现 24 个达 5% 全基因组水平显著的位点, 与 100 日龄胸腺重和脾脏重显著相关, 并在这些位点附近发现 Janus kinase 1 (*JAK1*)、zinc finger DHHC-type containing 8 (*ZDHHC8*)、vav 3 guanine nucleotide exchange factor (*VAV3*)、SATB homeobox 1 (*SATB1*) 等候选基因; 84 个与这两个性状潜在关联同时达到 5% 染色体水平显著的位点。【结论】利用 GWAS 分析策略筛选和鉴定的重要突变位点及候选基因, 将为揭示鸡免疫器官发育的分子调控机制和抗病育种分子标记辅助选择提供必要的分子基础。

**关键词:** 北京油鸡; 胸腺重; 脾脏重; 全基因组关联分析

## Genome-Wide Association of Thymus and Spleen Mass in Chicken

ZHANG Lei, ZHENG Mai-qing, LIU Ran-ran, WEN Jie, WU Dan, HU Yao-dong, SUN Yan-fa, LI Peng, LIU Li, ZHAO Gui-ping

(Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Farm Animal Genetic Resources and Germplasm Innovation, Ministry of Agriculture, Beijing 100193)

**Abstract:**【Objective】Genome-wide association study (GWAS) is a new strategy to identify genes and chromosome regions associated with complex traits.【Method】A total of 728 Beijing-You chickens from 50 families were genotyped by 60K SNP Illumina iSelect chicken array. GWAS was performed to study the candidate loci affecting thymus weight and spleen weight at 100 days of age.【Result】It was found that 24 SNPs were significantly associated with target traits at Bonferroni corrected 5% genome-wise threshold, including Janus kinase 1 (*JAK1*), zinc finger DHHC-type containing 8 (*ZDHHC8*), vav 3 guanine nucleotide exchange factor (*VAV3*), SATB homeobox 1 (*SATB1*) and other genes near these SNPs, and 84 SNPs reached both the significance of 'suggestive linkage' and 5% chromosome-wise threshold.【Conclusion】These identified genes and SNPs offered essential information for understanding of the molecular mechanisms of immune organs development and facilitated the application of marker-assisted selection in diseases-resistance breeding program in chicken.

**Key words:** Beijing-You chicken; thymus mass; spleen mass; GWAS

### 0 引言

【研究意义】抗病性状是家禽生产中的重要经济性状, 受多个数量性状基因座 (QTL) 控制。通过分

子标记的方法对控制鸡抗病性状的 QTL 进行定位、分析, 进而进行标记辅助选择一直是相关领域研究的热点。在有关鸡的研究中已鉴定的涉及 257 个性状的 2 736 个 QTL 中, 抗病性性状仅占 14%, 且多数为特殊

收稿日期: 2012-02-15; 接受日期: 2012-05-23

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2011BAD28B03)、农业产业技术体系项目 (nycytx-42)、中央级公益性科研院所基本科研业务费项目 (2010jc-1)

联系方式: 张磊, Tel: 15210716361; E-mail: aleiyishi@126.com。郑麦青, Tel: 13501096887; E-mail: wheatzheng@163.com。张磊与郑麦青为同等贡献作者。通信作者赵桂苹, Tel: 010-62816019; E-mail: zhgp0402@iascaas.net.cn

抗病力性状<sup>[1]</sup>。胸腺和脾脏是家禽的两个重要免疫器官。胸腺作为中枢免疫器官,主要由胸腺上皮细胞和胸腺细胞组成,是 T 细胞分化成熟的场所,其输出 T 细胞的数量和质量直接影响免疫系统的整体功能。同时胸腺又是神经内分泌器官,在神经内分泌免疫网络中占据特殊的重要地位,其结构与功能受神经内分泌、免疫等诸多因子的调节<sup>[2]</sup>。脾脏是最大的外周免疫器官,主要由被膜和实质两大部分构成,参与机体造血、滤血、储血和免疫应答等生理功能。脾脏自身的淋巴细胞较多,尤其是 B 淋巴细胞,是体内对外界抗原起免疫反应的主要场所<sup>[3]</sup>。很多研究都以免疫器官重作为衡量家禽免疫机能的指标之一<sup>[4-6]</sup>。通过全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 寻找影响免疫器官重的基因和分子标记将为家禽分子标记辅助抗病育种提供重要的理论基础。【前人研究进展】Zhou 等<sup>[7]</sup>以肉鸡×来航鸡和肉鸡×Fayoumi 两个 F2 资源群体为材料,用 269 个微卫星标记扫描 15 条常染色体、Z 染色体和 E46 连锁群,分别在 1、4、7 和 2、4、15 号染色体上发现影响 56 日龄脾脏重的 QTL。Park 等<sup>[8]</sup>在肉鸡 56 日龄体重高低双向选择系中定位到 10、11 号染色体上 2 个影响 70 日龄脾脏重的潜在 QTL。对于控制鸡胸腺重的 QTL 和候选基因的研究尚未见报道。在奶牛、猪等农业动物中,针对数量性状的 GWAS 研究已取得了一定的研究进展<sup>[9]</sup>,但针对鸡免疫器官重性状的 GWAS 研究尚未见报道。【本研究切入点】传统 QTL 定位方法存在很多局限性,多数已定位的 QTL 置信区间大,分辨率低,难以发现致因突变或易感基因<sup>[10-11]</sup>,不能有效应用到标记辅助选择之中。与传统 QTL 定位相比, GWAS 是一种复杂性状和疾病相关基因定位的新策略,其基本思想是直接检测基因本身或基因附近微小区域的 SNP 标记与性状表型信息的关联来实现基因的精细定位。【拟解决的关键问题】本试验基于 728 只北京油鸡纯系公鸡个体,利用鸡 60K SNP 芯片进行基因型检测,采用全基因组关联分析方法对影响北京油鸡 100 日龄胸腺重、脾脏重两个非特异性免疫相关性状的基因进行定位研究,以期揭示鸡胸腺和脾脏发育的分子调控机制和标记辅助抗病育种提供必要的理论基础。

## 1 材料与方法

本研究的饲养试验于 2010 年 8 月 3 日—11 月 11 日在中国农业科学院北京畜牧兽医研究所昌平试验基地完成;其余各项分析于 2011 年 3 月—2012 年 3 月

在中国农业科学院北京畜牧兽医研究所家禽遗传育种研究室完成。

### 1.1 实验动物

试验中北京油鸡来自中国农业科学院北京畜牧兽医研究所国家级保种场的保种群体。以 50 只公鸡、250 只母鸡,公母比例 1:5 组建 50 个公鸡家系,共繁殖同一日龄子代公鸡个体 728 只用于芯片测定。整个试验期鸡群饲养于同一鸡舍,按常规免疫程序免疫,健康状况良好,没有发生疾病。80 日龄翅下静脉采全血,用于基因组 DNA 提取。100 日龄称活体重,统一屠宰,取胸腺、脾脏后分别称重。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取及质控 按常规酚-氯仿抽提法提取血液基因组 DNA,溶于 TE 中, NanoDrop™2000 分光光度计检测 DNA 质量,包括 3 项指标:(1)DNA 完整性要大于 10 kb。(2)DNA 纯度指标 A260/A280 值在 1.8—2.0 之间, A260/A230 值在 1.8—2.2 之间。

(3)DNA 浓度 50 ng·μL<sup>-1</sup>。质控合格的样品 DNA 送加拿大 DNA LandMarks 公司使用鸡 60K SNP Illumina iSelect 芯片 (Illumina, USA) 进行 SNP 分型。

1.2.2 芯片试验 主要包括以下 8 个步骤:(1)DNA 定量。(2)DNA 扩增。(3)DNA 片段化。(4)DNA 重悬。(5)DNA 与芯片的杂交。(6)芯片的延伸、染色。(7)包被芯片。(8)芯片的扫描,由此所得的数据直接导入 BeadStudio 软件进行分析,得到每个样本的 SNP 分型数据<sup>[12]</sup>。

1.2.3 基因型数据的质控 应用 PLINK (V1.07) 软件对芯片基因型数据进行质量控制<sup>[13]</sup>。选择标准设置为:个体基因型缺失率小于 5%;SNP 位点缺失率小于 10%;哈迪温伯格平衡卡方检验 P 值大于 1×E-06;最小等位基因频率大于 0.03。不符合以上标准的个体和 SNP 位点被剔除。

### 1.3 数据处理和统计分析

1.3.1 性状表型值的统计描述 应用 SAS8.1 的 UNIVARIATE 程序计算 100 日龄脾脏重和胸腺重的算术平均数、标准差及变异系数。

1.3.2 群体结构分析 采用 PLINK (V1.07) 中 IBS 距离聚类法对试验群体是否存在分层进行检测:以 25 个 SNP 为一个窗口,5 个 SNP 为步移,利用 indep-pairwise 命令计算窗口内标记成对的  $r^2$  值,阈值为 0.2<sup>[14]</sup>,对所有常染色体上的 SNP 标记进行筛选;然后基于得到的独立 SNP 标记计算所有个体间成对的 IBS 距离;再以 IBS 矩阵为基础,利用 mds-plot 命

令进行多维标度分析 (multidimensional scaling, MDS)。

1.3.3 基于线性回归模型的关联分析 利用 PLINK (V1.07) 线性回归模型, 由于不存在批次、性别等固定效应, 脾脏重和胸腺重性状均以 100 日龄活体重、家系作为协变量, 进行全基因组关联分析。为减少多重检验带来的假阳性率, 以连锁不平衡 (LD) 修正的 Bonferroni 校正对全基因组关联分析结果  $P$  值进行校正<sup>[15]</sup>。此处独立检验数计算同样利用 indep-pairwise 命令, 阈值为 0.4, 最后估算的 LD 块和单个独立 SNP 数目为 17 794, 因此 Bonferroni 校正的达 5% 基因组水平显著的  $P$  值阈值为  $2.81E-06$  ( $0.05/17794$ ), 达到基因组水平潜在关联的  $P$  值阈值为  $5.62E-05$  ( $1/17794$ ), 同时依据基因型数据质控后每条染色体上的 SNP 数目, 设置 Bonferroni 校正的 5% 染色体水平显著阈值, 即 0.05 除以每条染色体上的 SNP 数<sup>[12]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 基因型数据质控结果

经过质控后, 最后剩余 720 个个体, 44 130 个 SNP 标记, 可用于后续的关联分析, 每条染色体对应的 Bonferroni 校正的 5% 染色体水平显著阈值见表 1。

### 2.2 性状表型值的描述统计

个体免疫性状表型值的描述统计量见表 2。

### 2.3 群体结构分析

群体分层问题所造成的群体混杂是 GWAS 研究中出现假阳性、假阴性的重要原因之一, 因此, 关联分析前要对试验群体进行群体结构检测, 以便校正其影响<sup>[16]</sup>。利用 PLINK (V1.07), 对常染色体上 SNP 筛选后, 共得到 7175 个独立 SNP 标记。以计算的 MDS 成分 1 和成分 2 应用 R (V2.13.1) 作图, 50 个公鸡家系分别用一种颜色表示, 如图 1 所示, 所有家系个体均匀分布, 表明无群体分层存在。

### 2.4 全基因组关联分析

发现达到 Bonferroni 校正的 5% 基因组水平显著的 SNP 位点 24 个, 总结于表 3。其中有 8 个 SNP 与胸腺重显著关联, 分布在 1、2、3、8、15 号染色体, 并在这些位点附近发现纤溶酶原激活抑制剂 I 型 RNA 结合蛋白 (plasminogen activator inhibitor 1 RNA-binding protein, SERBP1)、蛋白酪氨酸激酶 1 (Janus kinase 1, JAK1)、神经生长调节因子 1 (neural growth regulator 1, NEGR1)、震颤蛋白同源物 (quaking homolog, QKI)、Ras 相关蛋白 23 (RAB23, member

表 1 每条染色体对应的 Bonferroni 校正的 5% 染色体水平显著阈值

Table 1 Bonferroni-corrected 5% chromosome-wise significance threshold after quality control

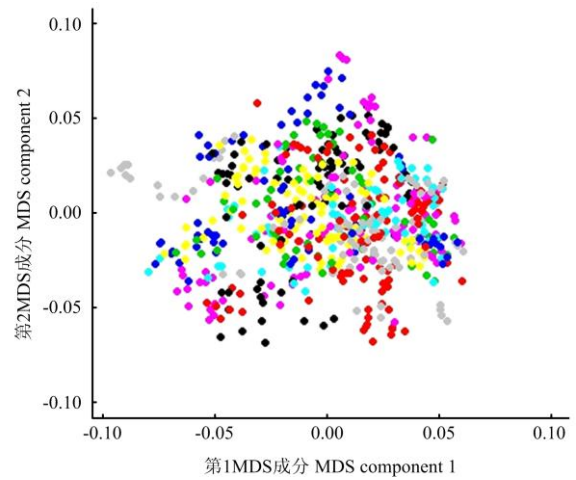
染色体	5% 染色体水平显著阈值
Chromosome	5% chromosome-wise significance threshold
1	7.27E-06
2	9.67E-06
3	1.27E-05
4	1.58E-05
5	2.39E-05
6	3.10E-05
7	2.84E-05
8	3.76E-05
9	4.30E-05
10	3.97E-05
11	4.30E-05
12	3.81E-05
13	4.68E-05
14	5.15E-05
15	5.28E-05
16	2.50E-03
17	6.02E-05
18	6.23E-05
19	6.31E-05
20	3.50E-05
21	6.49E-05
22	1.86E-04
23	8.52E-05
24	7.66E-05
25	2.99E-04
26	7.91E-05
27	1.16E-04
28	9.23E-05
LGE22C19W28_E50C23	5.10E-04
LGE64	5.00E-02
Z	2.88E-05
0	8.94E-05

0 表示位置未知 SNPs 所在染色体

0 means the SNPs are not assigned to any chromosome

RAS oncogene family, Rab23) 和锌指, 含 DHHC 型 8 (zinc finger, DHHC-type containing 8, ZDHHC8) 等候选基因; 16 个 SNP 与脾脏重显著关联, 分布在 1、2、3、4、8、13、19、25 号染色体, 在其附近有双特

异性磷酸酶 1 (dual specificity phosphatase 1, DUSP1)、ODZ 同源物 2 (odd Oz/ten-m homolog 2, ODZ2)、PDZ-LIM 结构域 7 (PDZ and LIM domain 7, PDLIM7)、酪蛋白激酶 1 $\alpha$ 1 (casein kinase 1, alpha 1, CSNK1A1)、卵巢滤泡激素互作蛋白 1 (folliculin interacting protein 1, FNIP1)、LIM 同源异形盒 1 (LIM homeobox 1, LHX1)、microRNA MIR1585 (microRNA mir-1585)、鸟苷酸交换因子 vav3 (vav 3 guanine nucleotide exchange factor, VAV3)和 SATB 同源异形盒 1 (SATB homeobox 1, SATB1) 等候选基因。



图中共有 50 种颜色的圆点，每种颜色代表一个公鸡家系。  
There are fifty kinds of colors in the plot, where each indicates one family

表 2 免疫器官重的描述统计分析

Table 2 Descriptive statistics of immune organs mass

性状		均值	标准差	变异系数
Trait		Mean	SD	CV (%)
胸腺重 (g)	Thymus weight	7.29	2.84	38.98
脾脏重 (g)	Spleen weight	2.24	0.63	28.30

图 1 群体结构多维标度分析

Fig.1 Sample structure identified by MDS analysis

表 3 免疫器官重达 Bonferroni 校正的 5%基因组水平显著的 SNP 位点信息

Table 3 Bonferroni-corrected 5% genome-wise significant SNPs for immune organs mass

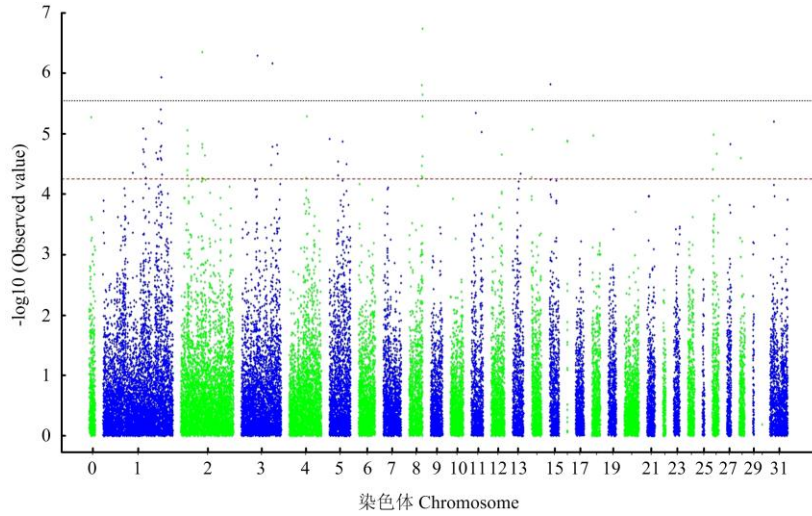
性状	染色体	标记号	物理位置 (bp)	最近基因	P 值
Trait	Chromosome	SNP ID	Position (bp)	Nearest gene	P value
胸腺重	8	Gga_rs10728975	29 461 390	413bp U <i>SERBP1</i>	1.83E-07
Thymus weight	2	Gga_rs14190160	60 599 203	75kb U <i>MBOAT1</i>	4.42E-07
	3	Gga_rs15338648	46 604 544	499kb D <i>QKI</i>	5.04E-07
	3	Gga_rs14390093	89 581 344	30kb D <i>RAB23</i>	6.89E-07
	1	GGaluGA053529	170 363 882	232kb D <i>WBP4</i>	1.15E-06
	15	GGaluGA106501	1 683 190	272kb D <i>ZDHHC8</i>	1.51E-06
	8	Gga_rs16648960	29 033 857	<i>JAK1</i>	1.58E-06
	8	Gga_rs13684954	29 974 237	<i>NEGR1</i>	2.28E-06
脾脏重	13	Gga_rs16074130	8 888 130	78kb U <i>DUSP1</i>	1.89E-09
Spleen weight	13	Gga_rs14053588	5 118 110	6kb D <i>ODZ2</i>	1.37E-08
	25	Gga_rs16081332	172 841	14kb D <i>UBQLN4</i>	3.99E-07
	13	GGaluGA094326	10 260 268	<i>PDLIM7</i>	4.76E-07
	19	GGaluGA128533	8 237 445	108kb U <i>LHX1</i>	5.17E-07
	4	Gga_rs14479254	62 812 058	47kb D <i>UBE2D3</i>	5.37E-07
	13	GGaluGA093620	8 442 102	20kb D <i>CSNK1A1</i>	7.60E-07
	19	GGaluGA128842	8 814 078	14kb D <i>MIR1585</i>	1.14E-06
	2	Gga_rs16045363	82 061 010	4kb U <i>NSUN2</i>	1.56E-06
	13	Gga_rs14064689	17 035 006	42kb U <i>FNIP1</i>	1.97E-06
	19	Gga_rs13575891	8 223 562	122kb U <i>LHX1</i>	2.14E-06
	2	Gga_rs14163884	34 791 768	344kb U <i>SATB1</i>	2.44E-06
	1	Gga_rs13828754	16 547 084	144kb D <i>ABCD2</i>	2.55E-06
	8	Gga_rs16616786	1 113 985	<i>VAV3</i>	2.64E-06
	1	GGaluGA007298	21 154 223	460kb U <i>TRABD</i>	2.75E-06
	3	Gga_rs14363919	58 455 215	252kb D <i>TBPL1</i>	2.77E-06

U、D 代表这个标记在基因的上游 (upstream) 或下游 (downstream)。下同 U means 'upstream of', and D 'downstream of'. The same as below

发现同时达到潜在关联和 5% 染色体水平显著位点 84 个，总结于表 4。在 69 个与胸腺重潜在关联的 SNP 位点中，有 29 个同时达到 5% 染色体水平显著；108 个与脾脏重潜在关联，其中 55 个同时达到 5% 染色体水平显著。

在与胸腺重相关联的所有 37 个 SNP 中，有 7 个位点集中分布在 1 号染色体，6 个集中分布在 8 号染色体。在与脾脏重相关联的所有 71 个 SNP 中，分别有 11 个位点集中分布在 13、19 染色体上。

各性状全基因组关联分析结果如图 2、3 所示。



横坐标中的数字为染色体号，其中 0 代表位置未知的 SNP 所在染色体，29 和 30 分别代表连锁群 LGE64、LGE22C19W28\_E50C23，31 代表 Z 染色体。纵坐标为关联分析 P 值的 -log<sub>10</sub> 结果。黑色点线为达基因组水平 5% 显著阈值线，红色虚线为达全基因组潜在关联阈值线。下同  
The scale on the X-axis represents the ID of chromosomes, where 0 means the chromosome unknown SNPs are located in. Twenty-nine and thirty represent the linkage groups LGE22C19W28\_E50C23 and LGE64, respectively. Z chromosome is represented by 31. The scale on the Y-axis is the -log<sub>10</sub>(p-value) score of association analysis. The black dotted line is drawn at -log<sub>10</sub>(2.81 × 10<sup>-6</sup>) to show those significant at the genome-wise 5% threshold, and the red dashed line indicates genome-wise significance of suggestive association. The same as below

图 2 胸腺重的全基因组关联分析

Fig.2 Manhattan plot of genome-wide association analysis for thymus weight

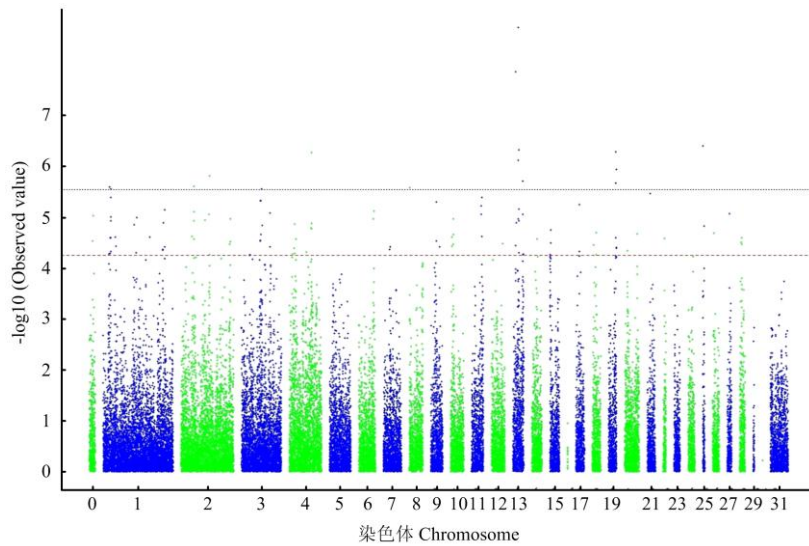


图 3 脾脏重的全基因组关联分析

Fig.3 Manhattan plot of genome-wide association analysis for spleen weight

表 4 免疫器官重同时达到全基因组潜在关联和染色体水平 5%显著的位点信息

Table 4 SNPs significant at both genome-wise level of suggestive linkage and 5% chromosome-wise level for immune organs mass

性状 Trait	染色体 Chromosome	标记号 SNP ID	物理位置 (bp) Position (bp)	最近基因 Nearest gene	P 值 P value
胸腺重 Thymus weight	1	Gga_rs13965712	167566778	1056kb D <i>TDRD3</i>	4.01E-06
	11	GGaluGA076260	8381835	<i>VPS35</i>	4.49E-06
	8	GGaluGA333517	30421933	8kb D <i>TNNI3K</i>	5.15E-06
	4	GGaluGA257892	49801627	129kb D <i>MIR1730</i>	5.22E-06
	1	Gga_rs13958952	162407548	1269kb D <i>DACHI</i>	6.25E-06
	1	Gga_rs13767623	162445969	1308kb D <i>DACHI</i>	6.25E-06
	1	Gga_rs13959080	162560816	1422kb D <i>DACHI</i>	6.25E-06
	1	Gga_rs13959089	162605930	1468kb D <i>DACHI</i>	6.25E-06
	39	Gga_rs14752843	17500236	718kb U <i>DEPDC1B</i>	6.37E-06
	1	Gga_rs14912706	170345075	214kb D <i>WBP4</i>	6.73E-06
	14	Gga_rs14069780	1650011	345kb U <i>PDGFA</i>	8.63E-06
	2	Gga_rs14146198	18343362	58kb D <i>NEBL</i>	8.65E-06
	11	Gga_rs15623224	18487706	28kb D <i>HSBP1</i>	9.52E-06
	26	GGaluGA195519	1223599	808bp D <i>HBXIP</i>	1.05E-05
	18	Gga_rs15036330	1335451	327kb U <i>NDELI</i>	1.08E-05
	5	GGaluGA271489	78383	14kb U <i>TCIRG1</i>	1.22E-05
	16	GGaluGA111800	172967	2kb U <i>TRIM7.2</i>	1.32E-05
	5	Gga_rs14535708	41344453	35kb D <i>ANGEL1</i>	1.33E-05
	16	Gga_rs14738106	253412	3kb D <i>B-G</i>	1.35E-05
	27	Gga_rs15242584	3533018	20kb U <i>MIR196-1</i>	1.51E-05
26	Gga_rs14300259	3609652	8kb D <i>DCLRE1B</i>	2.13E-05	
12	Gga_rs14693691	15908959	102kb U <i>MITF</i>	2.24E-05	
8	Gga_rs14658377	30184528	138kb D <i>NEGR1</i>	2.39E-05	
28	GGaluGA201132	915274	<i>ELAVL1</i>	2.52E-05	
28	Gga_rs15246217	992268	36kb U <i>ZBTB7A</i>	2.56E-05	
8	Gga_rs14656538	28184940	83kb U <i>USP1</i>	3.41E-05	
26	GGaluGA194988	508552	14kb D <i>ZC3H11A</i>	3.88E-05	
13	GGaluGA096273	13485473	75kb D <i>NPY7R</i>	4.60E-05	
16	Gga_rs16057130	6471	<i>CD1C</i>	5.58E-05	
脾脏重 Spleen weight	21	Gga_rs16708880	2272002	23kb D <i>MXRA8</i>	3.38E-06
	11	GGaluGA079031	18211798	34kb D <i>CDH13</i>	4.02E-06
	1	GGaluGA007306	21208982	405kb U <i>TRABD</i>	4.04E-06
	3	Gga_rs15357408	54157844	93kb D <i>EZR</i>	4.65E-06
	3	Gga_rs15360451	55977438	32kb D <i>TXLNB</i>	4.74E-06
	9	Gga_rs13763624	11896431	<i>SLC9A9</i>	5.01E-06
	17	Gga_rs14101418	5286958	52kb U <i>MIR455</i>	5.64E-06
	11	Gga_rs15622493	17802751	<i>CDH13</i>	5.90E-06
	13	Gga_rs10730693	10290844	7kb D <i>PRELID1</i>	6.94E-06
	1	Gga_rs13977861	178777943	590bp U <i>N4BP2L2</i>	7.05E-06
6	GGaluGA306311	34346456	36kb U <i>ADAM12</i>	7.61E-06	

续表 4 Continued table 4

性状 Trait	染色体 Chromosome	标记号 SNP ID	物理位置 (bp) Position (bp)	最近基因 Nearest gene	P 值 P value
	2	GGaluGA141131	35129712	6kb U <i>SATB1</i>	7.81E-06
	3	Gga_rs14383527	82187585	11kb U <i>HMGN3</i>	8.34E-06
	27	GGaluGA199681	2830999	26kb U <i>MAPT</i>	8.53E-06
	11	Gga_rs14027347	17794509	<i>CDH13</i>	8.67E-06
	2	Gga_rs14208177	81048138	542kb D <i>CCT5</i>	8.68E-06
	13	GGaluGA097753	17017180	60kb U <i>FNIP1</i>	8.79E-06
	6	Gga_rs14593364	32714968	135kb D <i>ATE1</i>	1.07E-05
	13	Gga_rs13816807	8918497	48kb U <i>DUSP1</i>	1.07E-05
	10	Gga_rs15566782	5569520	359kb D <i>MIR190</i>	1.08E-05
	13	GGaluGA094535	10542170	34kb D <i>THOC3</i>	1.19E-05
	13	Gga_rs14053206	5537294	480kb D <i>ODZ2</i>	1.29E-05
	4	Gga_rs14479812	63237488	29kb D <i>CYP4V2</i>	1.32E-05
	4	GGaluGA247393	14639399	285kb D <i>LOC772071</i>	1.35E-05
	25	GGaluGA194549	1665159	<i>RPRD2</i>	1.49E-05
	15	Gga_rs14087152	1411045	<i>ZDHHC8</i>	1.80E-05
	18	GGaluGA120142	4507247	<i>EXOC7</i>	2.02E-05
	26	GGaluGA195609	1359621	22kb U <i>SRSF3</i>	2.04E-05
	20	GGaluGA181051	11724087	118kb D <i>RAE1</i>	2.12E-05
	10	Gga_rs15565303	4952201	139kb U <i>LACTB</i>	2.16E-05
	11	Gga_rs14027782	18494367	34kb D <i>HSBP1</i>	2.39E-05
	10	Gga_rs14000016	1494996	99kb D <i>MIR1623</i>	2.44E-05
	19	GGaluGA128608	8338624	7kb U <i>LHX1</i>	2.55E-05
	28	GGaluGA201514	1491998	74kb U <i>OAZ1</i>	2.56E-05
	22	Gga_rs15998400	1945784	323kb U <i>LOC431251</i>	2.60E-05
	14	GGaluGA102929	8607671	81kb D <i>ARL6IP1</i>	2.68E-05
	9	GGaluGA338748	11937809	<i>SLC9A9</i>	2.92E-05
	28	Gga_rs16210005	904973	6kb U <i>ELAVL1</i>	3.14E-05
	15	Gga_rs15762834	1499563	88kb D <i>ZDHHC8</i>	3.18E-05
	12	Gga_rs14045963	16813097	159kb D <i>FOXP1</i>	3.28E-05
	28	Gga_rs13663757	1318682	5kb U <i>ANP32B</i>	3.37E-05
	10	GGaluGA067141	5362984	153kb D <i>MIR190</i>	3.40E-05
	18	GGaluGA118339	1682299	<i>NDEL1</i>	3.50E-05
	13	Gga_rs14990434	4751423	<i>ODZ2</i>	3.55E-05
	10	GGaluGA065898	1538016	142kb D <i>MIR1623</i>	3.74E-05
	9	Gga_rs14677514	18398342	52kb D <i>TTC14</i>	3.79E-05
	19	Gga_rs15855848	9535076	<i>RAP1GAP2</i>	3.90E-05
	19	Gga_rs14124079	9623537	78kb D <i>RAP1GAP2</i>	3.90E-05
	19	GGaluGA129062	9638620	93kb D <i>RAP1GAP2</i>	3.90E-05
	19	Gga_rs14124099	9741222	196kb D <i>RAP1GAP2</i>	3.90E-05
	19	Gga_rs14124107	9797340	252kb D <i>RAP1GAP2</i>	3.90E-05
	19	Gga_rs14124132	9805581	260kb D <i>RAP1GAP2</i>	3.90E-05
	19	Gga_rs15855853	9536343	<i>RAP1GAP2</i>	4.04E-05
	17	Gga_rs14739097	5221453	118kb U <i>MIR455</i>	4.63E-05
	18	Gga_rs10724095	4233354	<i>SRSF2</i>	5.51E-05

### 3 讨论

GWAS 是一种利用分布于整个基因组范围的 SNP, 并借助强大统计学工具对影响某些复杂性状的遗传变异进行鉴定和分析的方法。在农业中, 狗、牛的 GWAS 研究开展较早<sup>[17-18]</sup>, 在猪、鸡上的 GWAS 研究结果也有陆续报道<sup>[9,19-20]</sup>, 但尚未见针对鸡免疫相关性状的 GWAS 研究。本研究在 8 号染色体上 941 kb 的区段内发现密集存在 3 个影响胸腺重的显著 SNP 位点, 分别是位于 *SERBP1* 基因上游 413 bp 处的 SNP (Gga\_rs10728975)、*JAK1* 基因内含子中的 SNP (Gga\_rs16648960) 和神经生长调节因子 1 内含子中的 SNP (Gga\_rs13684954)。*SERBP1* 编码 I 型纤溶酶原激活剂抑制物(PAI-1)mRNA 结合蛋白, 可调控 PAI-1 mRNA 稳定性, 继而调控 PAI-1 基因表达, 纤溶酶原激活剂 (PA) 主要受 PAI-1 调控, 它催化激活的纤溶酶参与多个涉及定位酶解 (localized proteolysis) 的生理和病理过程, 如组织重建、肿瘤细胞侵袭和转移等过程<sup>[21]</sup>, *SERBP1* 的剪接变异体 CGI-55 还参与 CHD-3 介导的染色质重塑和转录调控<sup>[22]</sup>。*JAK1* 属于非受体型蛋白酪氨酸激酶 (JAK) 家族成员之一, 它参与体内许多细胞因子的信号转导, 研究报道 *JAK1* 敲除小鼠在淋巴细胞生成上存在巨大缺陷, 而且不能响应来自 IL-2、IL-4、IL-7、IFN $\alpha$ / $\beta$  和 IFN $\gamma$  受体的信号<sup>[23]</sup>。在荷瘤小鼠模型上的试验表明, 受损的 JAK/STAT 信号通路导致胸腺中 T 细胞非正常发育和凋亡相关<sup>[24]</sup>。*NEGR1* 在神经发育、神经细胞生长和神经可塑性方面具有重要作用, 在人类研究中, 该基因与体重调控、成神经细胞瘤等相关<sup>[25-27]</sup>。

3 号染色体上有 2 个与胸腺重显著关联的位点, 分别是位于 *QKI* 基因下游 499 kb 处的 SNP (Gga\_rs15338648) 和位于 *Rab23* 下游 30 kb 处的 SNP (Gga\_rs14390093)。*QKI* 属于 STAR (signal transduction and activation of RNA) 家族成员, 是一类 RNA 结合蛋白, 能够调节众多与细胞增长和分化密切相关的基因<sup>[28]</sup>。目前对它的研究主要集中在啮齿类动物神经系统中<sup>[29]</sup>, 也有研究报道了其在人类结肠癌演变<sup>[30]</sup>、鸡睾丸精子发生中的表达变化和功能<sup>[31]</sup>, 以及在造血系统髓系分化中的调节作用<sup>[32]</sup>, 髓系是造血系统分化发育过程中一支重要的谱系, 其进一步分化成熟产生单核/巨噬细胞, 提示其可能在免疫系统中具有重要作用。*Rab23* 是小 GTP 酶超家族 Rab 家族成员, 研究表明 *Rab23* 是 SHH (Sonic Hedgehog) 信号通路的负调控因子<sup>[33]</sup>, 该通路高度保守, 广泛参与器官发育和细

胞命运的决定, 在胸腺细胞发育过程中也发挥重要作用<sup>[34]</sup>。研究发现 SHH 基因敲除小鼠胚胎中淋巴细胞的发育会发生阻滞<sup>[35]</sup>。

15 号染色体上有 1 个影响胸腺重的位点 SNP (GGaluGA106501), 该位点位于 *ZDHHC8* 基因下游 272 kb 处。*ZDHHC8* 基因很可能编码一种棕榈酰转移酶, 棕榈酰转移酶参与的蛋白质棕榈酰化是常见的一种翻译后蛋白质修饰方式, *ZDHHC8* 在包括人类大脑在内的多种组织高水平表达, 在脑部发育和神经递质受体信号转导方面具有重要作用<sup>[36]</sup>。目前对 *ZDHHC8* 的研究主要限于精神分裂症等精神疾病的研究上<sup>[37-39]</sup>。

在 13 号染色体上发现 5 个与脾脏重显著关联的位点, 分别是位于 *DUSP1* 基因上游 78 kb 处的 SNP (Gga\_rs16074130)、*ODZ2* 基因下游 6 kb 处的 SNP (Gga\_rs14053588)、*PDLIM7* 基因内的 SNP (GGaluGA094326)、*CSNK1A1* 基因下游 20 kb 处的 SNP (GGaluGA093620) 和 *FNIP1* 基因上游 42 kb 处的 SNP (Gga\_rs14064689)。*DUSP1* 是位于细胞核内的一种磷酸酶, 它特异性地使 JNK、p38 MAPK 和 ERK 等 MAPK 家族成员去磷酸化失活, MAPK 家族成员通过增加一些促炎性因子的表达在刺激炎症反应中发挥重要作用<sup>[40-41]</sup>。*ODZ2* 是一种膜结合转录因子, 显著表达于鸡中枢神经系统, 尤其是发育中的视觉系统, 在肢体发育的两个重要组织中心尖端外胚层脊 (AER) 和极化活性区也有表达<sup>[42]</sup>。Vinatzer 发现 *ODZ2* 与人类 MALT 淋巴瘤有关<sup>[43]</sup>。*PDLIM7* 是 PDZ-LIM 家族成员之一, PDZ-LIM 家族对器官形成有重要影响<sup>[44]</sup>, Krause 等研究发现 *PDLIM7* 与鸡胚肢体和心脏发育有关<sup>[45]</sup>。*CSNK1A1* 为酪蛋白激酶 1 家族成员, 对 Wnt、Hedgehog、TGF $\beta$ 、NF-AT 和 TNF $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 等细胞信号通路有重要调节作用<sup>[46]</sup>。*FNIP1* 通过与卵巢滤泡激素 (FLCN) 结合互作, 参与 FLCN 涉及的 AMPK、mTOR 和 TGF- $\beta$  信号通路的调节<sup>[47-48]</sup>。

19 号染色体上有 3 个显著影响脾脏重的位点, 分别是位于 *LHX1* 基因上游 108 kb 处的 SNP (GGaluGA128533) 和 122 kb 处的 SNP (Gga\_rs13575891)、*MIR1585* 下游 14 kb 处的 SNP (GGaluGA128842)。*LHX1* 是 LIM 同源盒基因家族成员, 作为一类特殊的转录因子, LIM 同源盒基因通过调控体内一些基因的表达决定脊椎和非脊椎动物发育中组织和细胞的特异性分化, 在组织构造、分化, 尤其是神经系统发育过程发挥了极为重要的调控作用<sup>[49]</sup>。SUN 发现 *LHX1* 表达受 SHH 信号



通路调控, 参与控制鸡胚胎间脑区域化过程<sup>[50]</sup>。*MIR1585* 编码一个 91 碱基长度的 microRNA, 研究证实, microRNA 参与调控哺乳动物免疫细胞分化、免疫反应、免疫来源疾病的形成以及造血功能<sup>[51]</sup>。

25 号染色体上位于 *UBQLN4* (ubiquilin4) 基因下游 14 kb 处的 SNP (Gga\_rs16081332)、4 号染色体上位于 *UBE2D3* (ubiquitin-conjugating enzyme E2D 3) 基因下游 47 kb 处的 SNP (Gga\_rs14479254)、8 号染色体上 *VAV3* 基因内的 SNP (Gga\_rs16616786)、3 号染色体上 *TBPL1* (TATA-Binding Protein-like 1) 基因下游 252 kb 处的 SNP (Gga\_rs14363919) 与脾脏重显著关联。Zhou 等<sup>[7]</sup>在肉鸡×来航鸡和肉鸡×Fayoumi 两个 F2 资源群体中, 发现 4 号染色体 181.6 cM 处存在一个影响 56 日龄脾脏重的 QTL, Gga\_rs14479254 位于此 QTL 峰值所在位置附近<sup>[7]</sup>。*UBQLN4* 编码的蛋白为泛素样蛋白家族成员, 参与蛋白酶体介导的蛋白质降解<sup>[52]</sup>。*UBE2D3* 是泛素蛋白酶体途径的 E2 酶家族成员, 在维持细胞周期的正常运转中起着重要作用<sup>[53]</sup>。*VAV3* 是参与 Rho GTP 酶与 GTP、GDP 结合和释放的鸟苷酸交换因子, 研究表明 *VAV3* 是 B 细胞发育、BCR 信号转导以及 TCR 信号转导中的关键因子<sup>[54-56]</sup>。*TBPL1* 参与真核生物转录起始调控, 为非哺乳多细胞动物早期胚胎发育所必需<sup>[57]</sup>。

1 号染色体上有 2 个影响脾脏重的显著 SNP, 分别是 *ABCD2* (ATP-binding cassette sub-family D member 2) 基因下游 144 kb 处的 SNP (Gga\_rs13828754) 和 *TRABD* (TraB domain containing) 基因上游 460 kb 处的 SNP (GGaluGA007298)。Zhou 等<sup>[7]</sup>在 1 号染色体 109—459 cM (物理位置: 35.4 Mb—163.8 Mb) 处发现影响 56 日龄脾脏重 QTL, Gga\_rs13828754 和 GGaluGA007298 均位于此 QTL 上游附近。*ABCD2* 属于 ABC 超家族成员, 参与极长链酰基辅酶 A 转运<sup>[58]</sup>。

2 号染色体上 *NSUN2* (NOP2/Sun domain family, member2) 基因上游 4 kb 处 SNP (Gga\_rs16045363) 和 *SATB1* 基因上游 344 kb 处的 SNP (Gga\_rs14163884) 与脾脏重显著关联。Zhou 等<sup>[7]</sup>发现 2 号染色体 103.7 cM 处存在一个影响 56 日龄脾脏重 QTL, Gga\_rs14163884 位于其附近。*NSUN2* 具有 RNA 甲基转移酶活性, 参与有丝分裂中纺锤体组装和染色体分离等诸多细胞周期事件, 为体内正常组织稳态所必需<sup>[59-60]</sup>。*SATB1* 是一种组织特异性的核基质结合蛋白, 在胸腺细胞和前 B 细胞之中显著表达, 参与染色质高级结构的形成和

组织特异性基因的表达调控, 对于胸腺细胞发育和 T 细胞成熟起到了尤为重要的作用<sup>[61-63]</sup>。

## 4 结论

本研究利用鸡 60K SNP 芯片, 通过全基因组关联分析发现影响鸡 100 日龄免疫器官重 SNP 108 个: 达 5% 全基因组水平显著的位点 24 个, 潜在关联同时达到 5% 染色体水平显著位点 84 个, 找到了 *JAK1*、*Rab23*、*ZDHHC8*、*VAV3*、*SATB1* 等候选基因。为揭示鸡胸腺和脾脏发育的分子调控机制和应用标记辅助选择开展鸡的抗病育种提供了必要的理论基础。

## References

- [1] Hu Z L, Fritz E, Reecy J. AnimalQTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35: 604-609.
- [2] 王 云. 鸡胸腺发育形态学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010. Wang Y. Morphological study on the development of chicken thymus[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010.(in Chinese)
- [3] Reina M, Georg K. Structure and function of the spleen. *Nature Immunology*, 2005, 5:606-616.
- [4] Moller P, Erritzoe J. Predation against birds with low immunocompetence. *Oecologia*, 2000, 122:500-504.
- [5] Grasman A. Assessing immunological function in toxicological studies of avian wildlife. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42:34-42.
- [6] Smith G, Hunt L. On the use of spleen mass as a measure of avian immune system. *Oecologia*, 2004, 138:28-31.
- [7] Zhou H, Deeb N, Evock-Clover M. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. ii. body composition. *Poultry Science*, 2006, 85:1712-1721.
- [8] Park H-B, Jacobsson L, Wahlberg P. QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. *Physiological Genomics*, 2006, 25: 216-223.
- [9] Gu X R, Feng C G, Ma L. Genome-wide association study of body weight in chicken f2 resource population. *PLoS One*, 2011, 6(7): 21872.
- [10] Goddard M E, Hayes B J. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10:381-391.
- [11] Andersson L, Georges M. Domestic-animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics*, 2004, 5:

- 202-212.
- [12] 卢昕. 对猪部分免疫性状的 QTL 定位及全基因组关联分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2010.
- Lu X. QTL mapping and genome-wide association study for some immune traits in swine[D]. Beijing: China Agriculture University, 2010. (in Chinese)
- [13] Purcell S, Neale B, Todd-Brown K. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal Human Genetics*, 2007, 81:559-575.
- [14] Wang D, Sun Y, Stang P, Berlin J A. Comparison of methods for correcting population stratification in a genome-wide association study of rheumatoid arthritis: principal-component analysis versus multidimensional scaling. *BMC Proceedings*, 2009, 7: S109.
- [15] Nicodemus K K, Liu W, Chase G A. Comparison of type I error for multiple test corrections in large single-nucleotide polymorphism studies using principal components versus haplotype blocking algorithms. *BMC Genetics*, 2005, 1: 78.
- [16] Price A L, Zaitlen N A, Reich D. New approaches to population stratification in genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics*, 2010, 11(7):459-463.
- [17] Karlsson, K. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics*, 2007, 39(11):1321-1328.
- [18] Barendse W. A validated whole-genome association study of efficient food conversion in cattle. *Genetics*, 2007, 176(3):1893.
- [19] Duijvesteijn N. A genome-wide association study on androstenone levels in pigs reveals a cluster of candidate genes on chromosome 6. *BMC Genetics*, 2010, 11(1):42.
- [20] Fan B. Genome-wide association study identifies loci for body composition and structural soundness traits in pigs. *PLoS One*, 2011, 6(2): 14726.
- [21] Joanne H, Wendy D, Mensur D. Identification and cDNA cloning of a novel RNA-binding protein that interacts with the cyclic nucleotide-responsive sequence in the type-1 plasminogen activator inhibitor mRNA. *The Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(5): 3341- 3347.
- [22] Lemos T, Passosa D, Nery F. Characterization of a new family of proteins that interact with the C-terminal region of the chromatin-remodeling factor CHD-3. *FEBS Letters*, 2003, 533:14-20.
- [23] Rodig S J, Meraz M A. Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses. *Cell*, 1998, 93:373-383.
- [24] Carrio R, Torroella M, Iragavarapu V. Tumor-induced thymic atrophy: alteration in interferons and Jak/Stats signaling pathways. *International Journal Oncology*, 2011, 38(2): 547-553.
- [25] Marg A. Neurotractin, a novel neurite outgrowth- promoting Ig-like protein that interacts with CEPU-1 and LAMP. *The Journal of Cell Biology*, 1999, 145:865-876.
- [26] Schafer M, Brauer A U, Savaskan N E. Neurotractin/kilon promotes neurite outgrowth and is expressed on reactive astrocytes after entorhinal cortex lesion. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 2005, 29: 580-590.
- [27] Willer C J, Speliotes E K, Loos R J. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature Genetics*, 2009, 41: 25-34.
- [28] Bockbrader K, Feng Y. Essential function, sophisticated regulation and pathological impact of the selective RNA-binding protein QKI in CNS myelin development. *Future Neurology*, 2008, 3:655-668.
- [29] Feng Y, Bankston A. The star family member QKI and cell signaling. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2010, 693:25-36.
- [30] Yang G, Fu H, Zhang J, Lu X, Yu F, Jin L, Bai L, Huang B, Shen L, Feng Y, Yao L, Lu Z. RNA binding protein Quaking, a critical regulator of colon epithelial differentiation and a suppressor of colon cancer. *Gastroenterology*, 2010, 138(1): 231-240.
- [31] Mezquita J, Pau M, Mezquita C. Four isoforms of the signal-transduction and RNA-Binding protein QKI expressed during chicken spermatogenesis. *Molecular Reproduction and Development*, 1998, 50:70-78.
- [32] 傅海燕. RNA 结合蛋白 QKI 在造血系统髓系分化中的表达调控及其功能研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2009.
- Fu H Y. Functional elucidation of RNA binding protein QKI in the process of myeloid haematopoiesis[D]. Xi'an: the Fourth Military Medical University, 2009. (in Chinese)
- [33] Eggenschwiler J T, Espinoza E, Anderson K V. Rab23 is an essential negative regulator of the mouse sonic hedgehog signaling pathway. *Nature*, 2001, 412(6843): 194-198.
- [34] 吕艳杰. 鸡胚胸腺和法氏囊发育过程中 Shh 和 Bmp2 表达的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2005.
- Lü Y J. Expression patterns of Shh and Bmp2 in the developing chicken thymus and bursa of fabricius[D]. Ji'nan: Shandong University, 2005. (in Chinese)
- [35] Divya S, Ariadne L H, Susan V O. Reduced thymocyte development in sonic hedgehog knockout embryos. *Immunology*, 2004, 172: 2296-2306.
- [36] Mukai J, Liu H, Burt R. Evidence that the gene encoding ZDHHC8 contributes to the risk of schizophrenia. *Nature Genetics*, 2004, 36:725-731.

- [37] Chen W Y, Shi Y Y, Zheng Y L. Case-control study and transmission disequilibrium test provide consistent evidence for association between schizophrenia and genetic variation in the 22q11 gene ZDHHC8. *Human Molecular Genetics*, 2004, 13:2991-2995.
- [38] Faul T, Gawlik M, Bauer M. ZDHHC8 as a candidate gene for schizophrenia: Analysis of a putative functional intronic marker in case-control and family-based association studies. *BMC Psychiatry*, 2005, 5: 35.
- [39] Glaser B, Schumacher J, Williams H J. No association between the putative functional ZDHHC8 single nucleotide polymorphism rs175174 and schizophrenia in large European samples. *Biological Psychiatry*, 2005, 58(1): 78-80.
- [40] Owens D M, Keyse S M. Differential regulation of MAP kinase signaling by dual-specificity protein phosphatases. *Oncogene*, 2007, 26: 3203-3213.
- [41] Lang R, Hammer M, Mages J. DUSP meet immunology: dual specificity MAPK phosphatases in control of the inflammatory response. *The Journal of Immunology*, 2006, 177: 7497-7504.
- [42] Rubin B, Tucker R, Martin D. Teneurins: A novel family of neuronal cell surface proteins in vertebrates, homologous to the drosophila pair-rule gene product ten-m. *Developmental Biology*, 1999, 216: 195-209.
- [43] Vinatzer U, Gollinger M, Müllauer L. Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: novel translocations including rearrangements of ODZ2, JMJD2C, and CNN3. *Clinical Cancer Research*, 2008, 14(20):6426-6431.
- [44] Krcmery J, Camarata T, Kulisz A. Nucleocytoplasmic functions of the PDZ-LIM protein family: new insights in organ development. *Bioessays*, 2010, 32(2):100-108.
- [45] Krause A, Zacharias W, Camarata T. Tbx5 and Tbx4 transcription factors interact with a new chicken PDZ-LIM protein in limb and heart development. *Developmental Biology*, 2004, 273:106-120.
- [46] 王 勇. CK1 $\alpha$  激酶通过磷酸化蛋白 RIP 影响 TNF/NF- $\kappa$ B 信号通路的转导[D]. 北京: 中国协和医科大学, 2005.  
Wang Y. Regulation of TNF/NF- $\kappa$ B signaling pathway by CK1 $\alpha$  via phosphorylating RIP protein[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2005. (in Chinese)
- [47] Baba M, Hong S, Sharma N. Folliculin encoded by the BHD gene interacts with a binding protein, FNIPI, and AMPK, and is involved in AMPK and mTOR signaling. *PNAS*, 2006, 103(42): 15552-15557.
- [48] Hong S, Oh H B, Valera V. Tumor suppressor FLCN inhibits tumorigenesis of a FLCN-null renal cancer cell line and regulates expression of key molecules in TGF- $\beta$  signaling. *Molecular Cancer*, 2010, 9:160.
- [49] Hobert O, Westphal H. Functions of LIM-homeobox genes. *Trends in Genetics*, 2000, 16(2):75-83.
- [50] Sun X N, Saitsu H, Shiota K. Expression dynamics of the LIM-homeobox genes, Lhx1 and Lhx9, in the diencephalon during chick development. *International Journal Developmental Biology*, 2008, 52: 33-41.
- [51] Baltimore D, Boldin M P, O'connell R M. MicroRNAs: new regulators of immune cell development and function. *Nature Immunology*, 2008, 9(8):839-845.
- [52] Woznik M, Rodner C, LEMON K. Mumps virus small hydrophobic protein targets ataxin-1 ubiquitin-like interacting protein (ubiquilin4). *Journal of General Virology*, 2010, 91:2773-2781.
- [53] Wenzel D, Stoll K, Klevit R. E2s: structurally economical and functionally replete. *Biochemical Journal*, 2010, 433(1): 31-42.
- [54] Tybulewicz V L. Vav-family proteins in T-cell signalling. *Current Opinion in Immunology*, 2005, 17(3):267-274.
- [55] Turner M. B-cell development and antigen receptor signalling. *Biochemical Society Transaction*, 2002, 30(4):812-815.
- [56] Inabe K, Ishiai M, Scharenberg A. Vav3 modulates B cell receptor responses by regulating phosphoinositide 3-kinase activation. *The Journal of Experimental Medicine*, 2002, 195(2):189-200.
- [57] Akhtar W, Veenstra J C. TBP-related factors: a paradigm of diversity in transcription initiation. *Cell & Bioscience*, 2011, 1:23.
- [58] Morita M, Shimozawa N, Kashiwayama Y. ABC subfamily D proteins and very long chain fatty acid metabolism as novel targets in adrenoleukodystrophy. *Current Drug Targets*, 2011, 12(5): 694-706.
- [59] Blanco S, Kurowski A, Nichols J. The RNA-methyltransferase Misu (Nsun2) poises epidermal stem cells to differentiate. *PLoS Genetics*, 2011, 7(12): 1002403.
- [60] Hussain S, Benavente S, Nascimento E. The nucleolar RNA methyltransferase Misu (Nsun2) is required for mitotic spindle stability. *The Journal of Cell Biology*, 2009, 186(1):27-40.
- [61] Krangel M. T cell development: better living through chromatin. *Nature Immunology*, 2007, 8(7): 687-694.
- [62] Sedwick C. SATB1 makes a splash in t cell wnt signaling. *PLoS Biology*, 2010, 8(1): 1000295.
- [63] Beyer M, Thabet Y, Müller R U. Repression of the genome organizer SATB1 in regulatory T cells is required for suppressive function and inhibition of effector differentiation. *Nature Immunology*, 2011, 12(9):898-907.