

基于多组学解析 B380 鸡黑尾与白尾羽色性状的相关候选基因

任敏鹏¹, 张夕霏², 葛华梁¹, 耿立英¹, 李祥龙¹, 禹保军¹, 王坤杨¹, 张传生¹✉

¹河北科技师范学院动物科技学院/河北省特色动物物种质资源挖掘与创新重点实验室, 河北秦皇岛 066004; ²河北省畜牧良种工作站, 石家庄 050064

摘要:【目的】探究 Babcock B380 黑白尾羽颜色形成机制, 发掘与尾羽颜色相关关键候选基因及位点。为家禽育种和羽毛颜色相关性状的分子育种提供理论依据。【方法】以 80 只 B380 黑尾和白尾母鸡组成的自然群体为材料, 通过组织切片(光学显微镜)和透射电镜观察, 分析毛囊黑素小体的形态与分布; 利用转录组数据分析该材料的差异表达基因, 并通过加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)探究与尾羽颜色相关的共表达模块, 识别模块核心基因, 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 方法对差异表达基因进行验证。结合自然群体基因型分析结果, 利用全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)方法, 挖掘与 Babcock B380 黑/白尾羽颜色相关的遗传位点, 并对其进行群体验证及整合分析, 同时分析 *PMEL* mRNA 密码子偏好性。【结果】显微镜观察发现, 黑素小体主要沉积于鸡毛囊羽轴区域, 黑尾鸡黑素小体面积显著高于白尾鸡。转录组分析筛选到 373 个差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs), 通路富集到黑色素合成过程, *PMEL*、*TYR*、*TYRP1* 和 *SLC45A2* 在黑尾毛囊高表达。WGCNA 富集得到 25 个模块, MEmagenta 模块与黑素小体合成密切相关, 网络连通性与蛋白互作网络分析挖掘到 10 个潜在调控核心基因, 包括: *PMEL*、*PIAS2*、*NDEL1*、*MSRA*、*HDLBP*、*GCNT4*、*FMR1NB*、*TBLX1*、*ST3GAL5*、*RAB11A*。qRT-PCR 结果显示 4 个 DEGs 表达趋势与 RNA-seq 结果一致。GWAS 分析共筛选出 968 个显著 SNP 位点, 分别位于鸡 1、5 和 34 号染色体上, 注释到 221 个基因, 7 个 *PMEL* SNP 与表型显著关联; rs316665588 位点与黑白尾羽性状显著关联, 密码子偏好性指数(codon bias index, CBI)显示该位点突变导致稀有密码子 UGU 变为常见密码子 UGC。【结论】Babcock B380 黑尾鸡毛囊中黑素小体分布面积显著高于白尾鸡。转录组筛选出 4 个羽色关键 DEGs, 鉴定到 10 个潜在调控核心基因。*PMEL* 为 B380 黑尾白尾性状候选基因, rs316665588 T/C 同义突变是 Babcock B380 黑/白尾形成的重要候选位点。

关键词: B380 鸡; 全基因组关联分析; 转录组分析; 密码子偏好性; *PMEL*

Identification of Candidate Genes Associated with Black-Tailed and White-Tailed Plumage Traits in B380 Chickens Based on Multi-Omics Analysis

REN MinPeng¹, ZHANG XiFei², GE HuaLiang¹, GENG LiYing¹, LI XiangLong¹, YU BaoJun¹, WANG KunYang¹, ZHANG ChuanSheng¹✉

¹College of Animal Science, Hebei Normal University of Science & Technology/Hebei Provincial Key Laboratory for the Exploration and Innovation of Characteristic Animal Genetic Resources, Qinhuangdao 066004, Hebei; ²Hebei Animal Breeding Improvement Center, Shijiazhuang 050064

Abstract:【Objective】To investigate the molecular mechanisms underlying black-tailed and white-tailed feather coloration in Babcock B380 and to identify key candidate genes and loci associated with tail feather color. It provides a theoretical basis for poultry breeding and molecular breeding of feather color related traits.【Method】A natural population consisting of 80 Babcock B380

收稿日期: 2025-12-09; 接受日期: 2026-03-23

基金项目: 河北省省级科技计划(262N6701D)

联系方式: 任敏鹏, E-mail: 2537374514@qq.com. 通信作者张传生, E-mail: cszhang1976@126.com

hens with either black-tailed or white-tailed phenotypes was used in this study. The morphology and distribution of melanosomes within tail feather follicles were analyzed using histological sections observed under light microscopy and transmission electron microscopy. Transcriptome data were utilized to identify differentially expressed genes (DEGs), and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) was performed to identify co-expression modules associated with tail feather color and to screen hub genes within key modules. The expression levels of selected DEGs were subsequently validated by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Furthermore, based on genotypic data from the natural population, a genome-wide association study (GWAS) was conducted to identify genetic loci associated with black-tailed and white-tailed feather coloration in Babcock B380 chickens. The identified loci were further validated at the population level and subjected to integrative analysis. In addition, codon usage bias of *PMEL* mRNA was analyzed. 【Result】 Microscopic observations revealed that melanosomes were predominantly deposited in the feather shaft region of chicken feather follicles, with the melanosome area being significantly greater in black-tailed chickens than in white-tailed chickens. Transcriptome analysis identified 373 DEGs, which were significantly enriched in melanin biosynthesis-related pathways. Key pigmentation-related genes, including *PMEL*, *TYR*, *TYRP1*, and *SLC45A2*, were highly expressed in black-tailed feather follicles. Weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) identified 25 co-expression modules, among which the MEmagenta module was closely associated with melanosome biosynthesis. Integrated analyses of network connectivity and protein-protein interaction networks identified ten potential hub regulatory genes: *PMEL*, *PIAS2*, *NDEL1*, *MSRA*, *HDLBP*, *GCNT4*, *FMR1NB*, *TBLX1*, *ST3GAL5*, and *RAB11A*. qRT-PCR validation showed that the expression patterns of 4 DEGs were consistent with the RNA-seq results. GWAS identified a total of 968 significant SNPs located on chicken chromosomes 1, 5, and 34, which were annotated to 221 genes. Among these, 7 SNPs within the *PMEL* gene showed significant associations with tail feather color. Notably, the rs316665588 locus was significantly associated with black-tailed and white-tailed feather phenotypes. Codon bias index (CBI) analysis indicated that the mutation at this locus resulted in a transition from the rare codon UGU to the more frequently used codon UGC. 【Conclusion】 The melanosome distribution area in feather follicles was significantly larger in B380 black-tailed chickens than in their white-tailed counterparts. Transcriptome analysis identified 4 key DEGs associated with plumage coloration and revealed 10 potential hub regulatory genes. *PMEL* was identified as a candidate gene underlying the black-tailed and white-tailed phenotypes in B380 chickens, and the synonymous T/C mutation at rs316665588 represents a key candidate locus contributing to the formation of black/white tail plumage.

Key words: B380 chicken; genome-wide association study (GWAS); transcriptome analysis; codon usage bias; *PMEL*

0 引言

【研究意义】羽色是鸡的重要外观表型,可以影响消费者的偏好与生产者的经济效益^[1]。鸡体羽颜色的遗传基础已被广泛研究。然而,对于远端羽毛(尾羽和翅尖)颜色形成的遗传模式和分子机制关注甚少。因此,探究其内在遗传调控机制,定位并克隆其关键调控基因,对于理解鸡的区域羽毛颜色发育的调控及特色品种选育具有意义。【前人研究进展】羽毛颜色是鸡重要的外观性状和经济性状之一,在品种识别、市场消费偏好以及家禽育种中具有重要意义。禽类羽色形成主要受黑色素沉积的影响,主要包括真黑素和褐黑素,二者相对含量是决定羽色差异的关键因素^[2]。真黑素是一种异质聚合物,由 5,6-二羟基吲哚及 5,6-二羟基吲哚-2-羧酸氧化聚合而成,可使羽毛呈现黑色、灰色和棕色^[3]。褐黑素源于 5-S-半胱氨酰多巴的氧化聚合,含有苯并噻嗪与苯并噻唑结构单元,可使羽毛呈现橙红、锈红或棕红等^[4]。黑色素的合成、转

运及沉积过程受多种基因协同调控,如 *PMEL*、*MC1R*、*TYRP1* 和 *MITF* 等^[5]。近年来,随着全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)和转录组测序技术的广泛应用,鸡羽色相关的遗传位点和分子调控机制不断被揭示,为羽色性状的遗传改良提供了重要理论基础^[6]。Wang 等通过对“豫粉 1 号”鸡颈部毛囊转录组分析,发现 *MED23* 和 *MITF* 是哥伦比亚羽色形成的关键调控基因^[7]。Zheng 等通过对惠阳胡须鸡毛囊转录组分析,鉴定出 *TYRP1*、*PMEL* 和 *DCT* 等在黄羽色素沉积过程中发挥重要作用的黑色素相关基因^[8]。目前研究中,由于鸡黑白羽色差异显著,其常被用作研究羽色形成分子机制的理想对照体系。PENG 等对粤西卷羽鸡黑羽和白羽群体进行 GWAS 分析,鉴定出羽色候选基因 *TYR*、*MC1R* 和 *CDHI*,并识别到关键位点 rs317372610、rs317806696 和 rs741501156 与表型显著相关^[9]。Yang 等对靖远鸡黑羽和白羽群体进行 GWAS 分析,鉴定到羽色候选基因 *TYR* 与候选位点 rs317379613^[10]。在鸡的尾羽颜色

遗传调控机制研究方面, Nie 等在矮脚鸡合成系中, 通过在多代仅选择红色体羽的遗传背景下开展尾羽类型间杂交试验, 发现尾羽颜色在后代中呈稳定分离, 且符合常染色体孟德尔遗传规律, 证实黑白尾羽性状独立于体羽颜色遗传^[1]。随后对该黑白尾群体 GWAS 分析, 发现 24 染色体 3.97–4.26 Mb 与白/黑尾羽表型显著相关, 鉴定到 *MCAM* 是黑尾性状形成的重要候选基因。Zheng 等通过对惠阳胡须鸡黑白尾羽毛囊进行转录组分析, 发现白尾毛囊 *TYRP1*、*TYR* 真黑素基因显著低表达, 是鸡白尾羽形成的重要候选基因^[12]。【本研究切入点】Babcock B380 是一种高产的褐壳蛋鸡品种, 其商业母雏中黑尾和白尾数量各半, 是研究黑/白尾性状形成机制的理想试验材料。鉴于现有研究多局限于单一组学对鸡黑白尾羽色形成机制的解析, 难以全面揭示其复杂调控网络。本研究基于多组学整合分析, 系统解析鸡黑白尾羽色性状的分子调控机制。【拟解决的关键问题】以 80 只 Babcock B380 黑尾和白尾的商品代母雏群体为研究对象, 采用 H.E 染色和

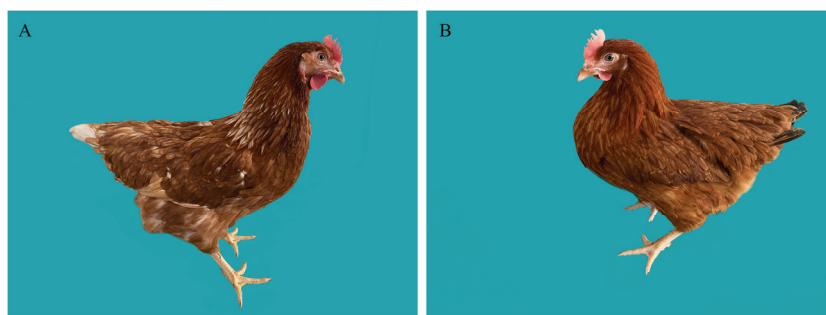
透射电镜观察黑尾白尾毛囊的形态学差异。结合利用转录组学筛选黑尾白尾毛囊中的差异表达基因, 并结合表型数据进行加权基因共表达网络分析 (WGCNA), 鉴定与黑/白尾显著相关的模块及其枢纽基因, 联合基因组重测序的 GWAS 分析识别与黑尾白尾羽颜色候选基因和 SNP 位点, 并对其进行群体验证分析; 同时, 分析 *PMEL* mRNA 的密码子偏好性, 以评估相关 SNP 对翻译效率的潜在影响。本研究为家禽育种和羽毛颜色相关性状的分子育种提供理论依据。

1 材料与方法

试验于 2024 年 6 月至 2025 年 8 月在河北省特色动物种质资源挖掘与创新重点实验室完成。

1.1 试验材料

试验材料来自天使家禽育种公司的 Babcock B380 商品代母雏共 80 只, 其中黑尾母雏和白尾母雏各 40 只 (图 1), 以及 10 种 NCBI 数据库黑尾鸡重测序数据 (表 1)。



A: 白尾母鸡; B: 黑尾母鸡 A: White-tailed Hen; B: Black-tailed Hen

图 1 Babcock B380 黑尾和白尾母鸡

Fig. 1 Babcock B380 black-tailed and white-tailed hens

1.2 B380 鸡尾羽毛囊黑素小体的分布观察

为观测黑素小体在尾羽毛囊中的分布, 选取 B380 黑尾白尾群体尾羽毛囊样本, 并立即置于 4% 多聚甲醛固定液 (BL539A, biosharp, 中国合肥) 中固定 24 h。随后, 样本经不同浓度的乙醇和二甲苯处理, 并被包埋在石蜡中。切片厚度为 3 μm , 采用苏木精-伊红染色法 (G1120, Solarbio, 中国北京) 进行染色。毛囊切片在光学显微镜 (BX53-P, Olympus, 日本) 下, 使用 20 $\times$ 和 40 $\times$ 物镜 (10 $\times$ 目镜) 进行组织学观察与成像, 以分析黑素小体在毛囊中的分布。

1.3 黑素小体超微结构观察

为观测黑素小体超微结构和形态特征, 选取 Babcock B380 黑尾白尾群体的尾羽毛囊样本, 依次使用 30%、50%、70%、80%、90%、95% 和 100% 浓度的丙酮 (C07201102, 南京试剂, 中国南京) 进行脱水处理。随后, 将样本与环氧树脂按 3 : 1、1 : 1 和 1 : 3 的比例混合渗透。加热聚合后, 使用 Leica EM UC7 超薄切片机将树脂块切割为约 50 nm 的超薄切片。使用醋酸铀和柠檬酸铅进行染色, 并在透射电子显微镜 (HT7830, 日立, 日本) 下观察黑素小体的超微结构。

表 1 NCBI 数据库 10 种黑尾鸡品种
Table 1 10 black-tailed chicken breeds in the NCBI database

品种 Breed	缩略词 Abbreviation	样本数量 Sample size	登录号 Accession	表型 Phenotype
矮脚鸡 Aijiao chicken	AJ	10	PRJNA947391	黑尾 Black-tailed
怀乡鸡 Huaixiang chicken	HX	10	PRJNA482210	黑尾 Black-tailed
和田鸡 Hetian chicken	HT	10	PRJNA482210	黑尾 Black-tailed
广西黄鸡 Guangxi yellow chicken	GXH	10	PRJNA482210	黑尾 Black-tailed
江汉鸡 Jianghan chicken	JH	10	PRJNA482210	黑尾 Black-tailed
彭县黄鸡 Pengxian yellow chicken	PX	10	PRJNA656352	黑尾 Black-tailed
黔东南小香鸡 Qiangdongnan xiaoxiang chicken	QDN	10	PRJNA947391	黑尾 Black-tailed
威宁鸡 Weining chicken	WN	10	PRJNA947391	黑尾 Black-tailed
文昌鸡 Wenchang chicken	WC	10	PRJNA800119	黑尾 Black-tailed
正阳黄鸡 Zhengyang yellow chicken	ZY	10	PRJNA482210	黑尾 Black-tailed

1.4 样本全基因组重测序及数据整合

对 80 只 Babcock B380 黑尾白尾群体的翅静脉进行采血，使用酚-氯仿法提取 DNA，NanoDrop 检测 DNA 浓度和质量。将质检合格的 DNA 样本送至北京康普森生物技术有限公司进行建库和测序，测序平台为 Illumina HiSeq 2500。将测序得到的原始序列进行检测过滤，fastp 软件去除带接头或低质量的 reads，bwa 软件将 Clean reads 与鸡参考基因组比对，使用 GATK 软件对 SNP 进行过滤：QD<2.0，FS>60.0，MQ<40.0，SOR>3.0，MQRankSum<-12.5，ReadPosRankSum<-8.0，同时应用 plink 软件进行质控（MAF≥0.05，缺失率<0.05）。

NCBI 数据库下载并转换 10 种鸡 sra 数据，按照上述方法进行质控、比对及 SNP 检测，利用 GATK 软件整合 180 只鸡重测序数据。

1.5 全基因组关联分析

基于 GEMMA^[13] 软件的单变量混合线性模型，对鸡黑、白尾羽性状开展全基因组关联分析，并以前 10 个主成分作为协变量、基于 SNP 标记计算的分子亲缘关系矩阵作为随机效应，以校正群体结构和亲缘关系影响，混合线性模型表示如下：

$$y=W\alpha+X\beta+\mu+\varepsilon$$

式中，y 为所有个体表型性状构成的 n×1 向量；W 表示协变量矩阵，包括截距项和前 10 个主成分的固定效应，α 为对应的系数向量，Wα 用于描述群体结构效应；X 为 SNP 位点的基因型向量，β 为该位点的效应值，Xβ 表示 SNP 对性状的效应；μ 为个体的

随机效应向量，服从 N(0, KVg) 分布，其中 K 为基于 SNP 标记计算得到的 n×n 分子亲缘关系矩阵，Vg 为多基因加性方差；ε 为 n×1 的随机误差向量，服从 N(0, IVε) 分布，其中 I 为 n×n 的单位矩阵，Vε 为残差方差。

为控制多重检验引起的假阳性，采用连锁不平衡修正的 Bonferroni 方法对 GWAS 的 P 值进行校正。利用 PLINK 软件计算 SNP 间的 r² 值，当 r²>0.4 时剔除其中一个标记，并以 50 个 SNPs 为窗口、10 个 SNPs 为步长进行滑窗分析，以估计独立 SNPs 位点数 N。全基因组显著性和潜在显著性阈值分别设定为 P = 0.05/N 和 P = 1/N，其中 P 为 Bonferroni 校正阈值，N 为独立 SNPs 位点数。

利用 CMplot 程序包对 GWAS 结果进行可视化，通过曼哈顿图展示全基因组标记的分布特征，Q-Q 图评估关联分析结果的合理性。

1.6 rs316665588 群体验证及密码子偏好性分析

根据 NCBI 中 PMEL 序列 rs316665588 位点，设计引物 PR1: 5'AGGTGCCCCATTGCGGTGGATGTGA C 3'和 PR2: 5'GTGGGGCTGCGGGAGATGCG 3'用于扩增 PR 片段，HinP1I 酶切 PCR 产物进行 PCR-限制性片段长度多态性（polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP）基因分型与统计，SPSS 22.0 进行差异显著性分析。利用整合 180 只鸡重测序数据，Rectchr 软件绘制 PMEL 单倍型热图。使用 CodonW 软件对 PMEL mRNA 序列进行密码子偏好性分析，统计不同密码子使用频率。

1.7 转录组测序与差异表达分析

采集 B380 黑尾和白尾鸡的尾羽毛囊组织，每组设 6 个生物学重复，共采集 12 个样品。使用 RNA Later 保存样本中的 RNA，通过干冰保存并送至武汉宏旭生物科技有限公司进行文库构建与测序。测序后，使用 fastp 软件去除接头和低质量的 reads，得到 Clean reads。HISAT2 软件将 Clean reads 与参考基因组比对，StringTie 软件对读数结果进行比较，得到基因表达数据。使用“DESeq2” R 包进行差异表达基因（DEGs）鉴定，筛选标准为 $\log_2 FC \geq 1$ 且 $FDR < 0.05$ 。基于 STRING 数据库（物种：Gallus gallus）获取差异表达基因的蛋白-蛋白互作（protein-protein interaction, PPI）信息，并使用 Cytoscape 软件进行

网络可视化分析^[14]。

1.8 实时荧光定量 PCR 分析

Babcock B380 黑尾和白尾鸡的尾羽毛囊组织利用 Trizol（R1100，Solarbio，北京）提取 RNA，经 NanoDrop 2000 检测浓度和纯度，琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。随后，使用 SureScript First-Strand cDNA 合成试剂盒（QP056，FulenGen，广州）将 RNA 逆转录为 cDNA。qRT-PCR 反应体系为 10 μ L，包括：5 μ L 2 $\times$ SYBR 混合液，0.2 μ L 正反向引物，1 μ L cDNA 以及 3.6 μ L 无 RNA 酶 ddH₂O。扩增程序为：95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min；95 $^{\circ}$ C 变性 10 s 执行 40 个循环，60 $^{\circ}$ C 退火 30 s，相对表达量采用 2 ^{$\Delta\Delta CT$} 方法计算，qRT-PCR 引物涉及如表 2 所示。

表 2 qRT-PCR 引物序列信息
Table 2 qRT-PCR Primer Sequence Information

基因 Gene name	描述 Description	F/R	引物序列 Primer sequence (5'-3')	Tm ($^{\circ}$ C)	产物大小 Production size (bp)
PMEL	前黑素体蛋白 Premelanosome protein	F	TTGTCTACGTGTGGTGGACG	60	173
		R	CTGGTCGGTGATGCTGAACT	59	
TYR	酪氨酸酶 Tyrosinase	F	CACTCTTAGGTGGCTCCAATGTG	60	168
		R	CAGTCCCAGTAGGGGATGGTGAA	60	
TYRP1	酪氨酸酶相关蛋白 1 Tyrosinase related protein 1	F	CAGAAGCTCAGTTCCTCTCG	59	198
		R	TGGTTGAAGAAGCGTATGG	60	
NPY	神经肽 Y Neuropeptide Y	F	GAGGCACTACATCAACCTCATCAC	59	142
		R	TGTTTTCTGTGCTTCCCTCAA	58	
β -actin	β -肌动蛋白 Beta-actin	F	TCACCAACTGGGATGATATGGA	60	181
		R	TTGGCTTGGGGTTTCAGG	59	

1.9 基因共表达与蛋白互作分析（PPI）

利用 TBtools 软件 WGCNA shiny 插件进行加权基因共表达网络分析（WGCNA）^[15]。基于转录组表达矩阵，保留在所有样本中平均 FPKM 表达水平位于前 70% 的基因用于后续 WGCNA 分析，以提高网络分析的稳定性。在网络构建前，对样本进行层次聚类分析以检测异常样本，未发现明显离群样本。采用无向（unsigned）网络模式构建共表达网络，基于 pickSoftThreshold 函数确定软阈值 β ，在无尺度拓扑拟合度 $R^2 > 0.85$ 的条件下选取 $\beta = 9$ ，并据此构建加权邻接矩阵并转换为拓扑重叠矩阵（TOM）。基于 1-TOM 距离进行层次聚类，最小模块基因数设为 50，模块合并阈值为 0.25。

通过 Pearson 相关分析计算模块特征基因(module

eigengene, ME) 与处理组之间的相关性，筛选与处理显著相关的模块 ($|r| > 0.6$, $P < 0.05$)。选取显著相关模块中的基因作为候选关键基因，并利用 Cytoscape 软件构建共表达网络，采用 CytoHubba 插件基于 MCC 算法筛选核心基因。随后使用 DAVID 服务器对关键模块基因进行 KEGG 通路富集分析。同时，基于 STRING 数据库（物种：Gallus gallus）获取模块关键基因的 PPI 信息，并使用 Cytoscape 软件进行网络可视化分析。

2 结果

2.1 黑素小体分布及超微结构观察

H.E 染色结果显示，黑色素主要沉积在尾羽毛囊羽轴区域，黑尾鸡黑素小体 H.E 染色面积显著高于白

尾鸡（图 2）；对黑尾与白尾毛囊进行透射电镜观察，结果表明，黑尾鸡毛囊中黑色素细胞内黑色素小体的面积显著高于白尾鸡（图 3），褐黑色素小体在黑尾和白尾中分别占比 59.25%、57.14%（表 3）。

2.2 转录组测序质控与分析

对 12 份 B380 毛囊（黑尾、白尾各 6 份）进行测序，获得了 74.56 Gb 的测序数据。质控后，各样本的测序错误率均低于 0.01%，Q30 碱基比例均高于 92.00%，

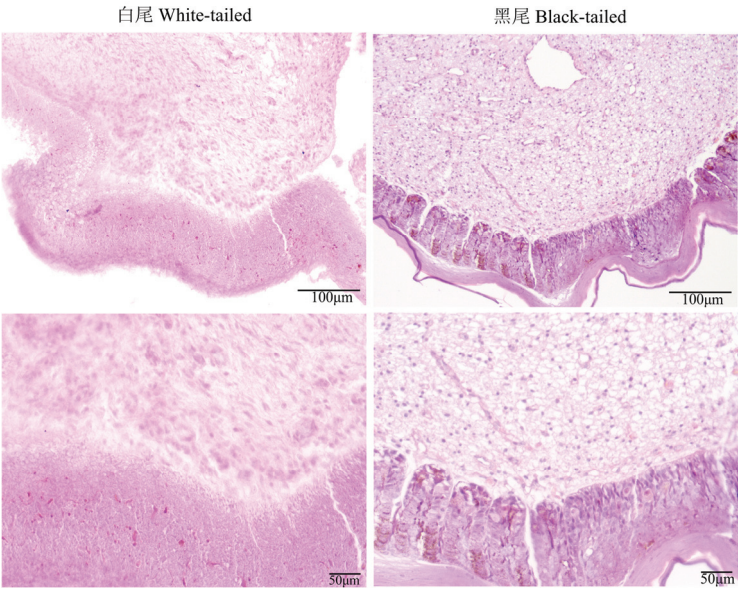
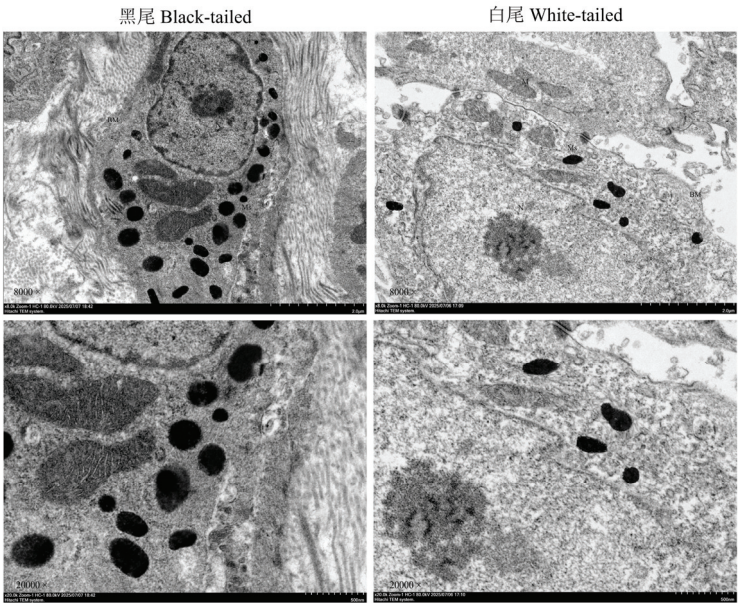


图 2 B380 黑尾与白尾毛囊 H. E 染色组织切片图

Fig. 2 H.E staining of tissue sections from B380 black-tailed and white-tailed follicles



N: 细胞核; BM: 基底膜; M: 线粒体; Ms: 黑色素小体 Nucleus (N), basement membrane (BM), mitochondria (M), melanosomes (Ms)

图 3 B380 黑尾和白尾毛囊黑色素小体细胞电镜图

Fig. 3 Electron microscopy of melanosome cells in B380 black-tailed and white-tailed follicles

表 3 黑色素小体面积测量

Table 3 Melanosome area measurement results

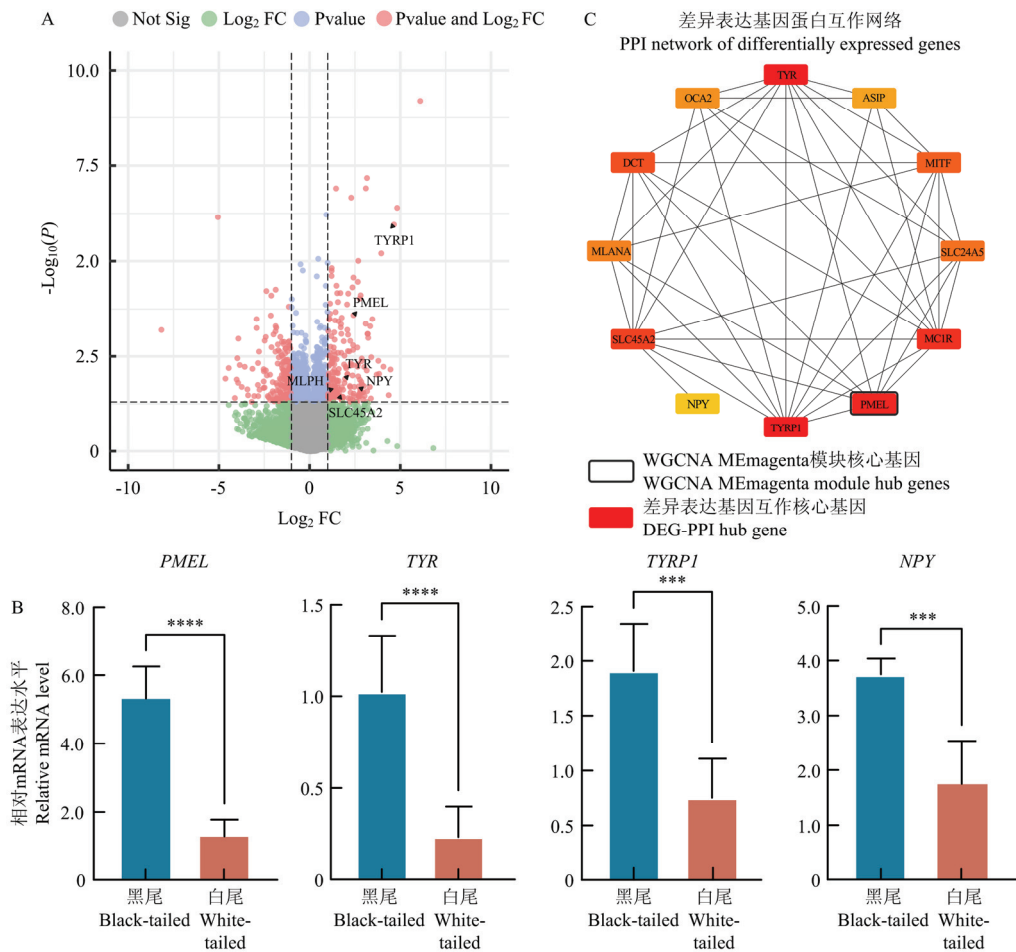
项目 Item	白尾 White-tailed	黑尾 Black-tailed
黑色素小体 H.E 染色面积 H.E-stained area of melanosomes (μm^2)	1686.52±111.02**	7384.13±319.67**
黑色素小体电镜图像面积 Melanosome area in transmission electron microscopy images (μm^2)	0.20±0.012**	1.03±0.032**
褐黑色素数量占比 Proportion of pheomelanin-containing melanosomes (%)	57.14±0.67	59.25±1.17
真黑色素数量占比 Proportion of eumelanin-containing melanosomes (%)	42.85±0.67	40.75±1.17

Welch's t 检验，数据以均值±标准差表示，*表示 $P<0.05$ ，**表示 $P<0.01$
Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Statistical significance was assessed using Welch's t-test. $P<0.05$ was considered statistically significant (*), and $P<0.01$ was considered highly significant (**)

GC 含量为 41.23%—41.62%，数据质量可靠，适用于后续分析（附表 1）。

2.3 毛囊组织间差异表达基因鉴定与 qRT-PCR 验证
为探究黑尾和白尾毛囊间差异表达基因(DEGs)，

利用 DESeq2 包筛选出 373 个 DEGs,包括 199 个上调基因和 174 个下调基因(图 4-A),*PMEL*、*TYR*、*TYRP1*、*SLC45A2*、*NPY* 和 *MLPH* 在黑尾毛囊高表达。为验证转录组数据，选取差异表达基因 *PMEL*、*TYR*、*TYRP1*



A: DEGs 火山图; B: qRT-PCR 验证结果; C: 差异表达基因蛋白相互作用网络
A: Volcano Plot of DEGs; B: qRT-PCR Validation Results; C: Protein-protein interaction network of differentially expressed genes
Welch's t 检验，数据以均值±标准差 (SD) 表示。***表示 $P<0.001$ ，****表示 $P<0.0001$
Data are presented as mean ± standard deviation (SD). Statistical significance was assessed using Welch's t-test. *** indicates $P<0.001$, and **** indicates $P<0.0001$

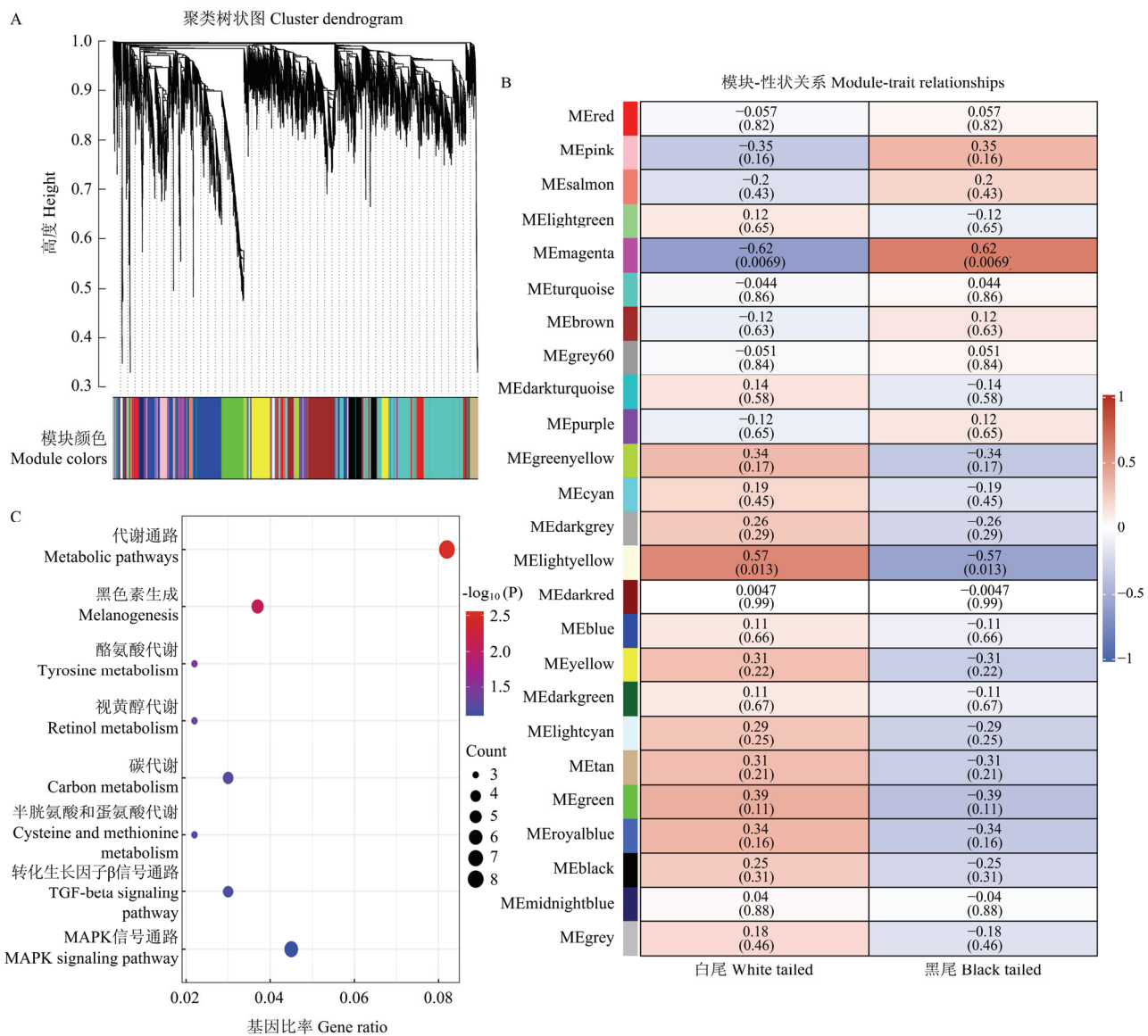
图 4 差异表达基因鉴定与 qRT-PCR 验证
Fig. 4 Identification of differentially expressed genes and qRT-PCR validation

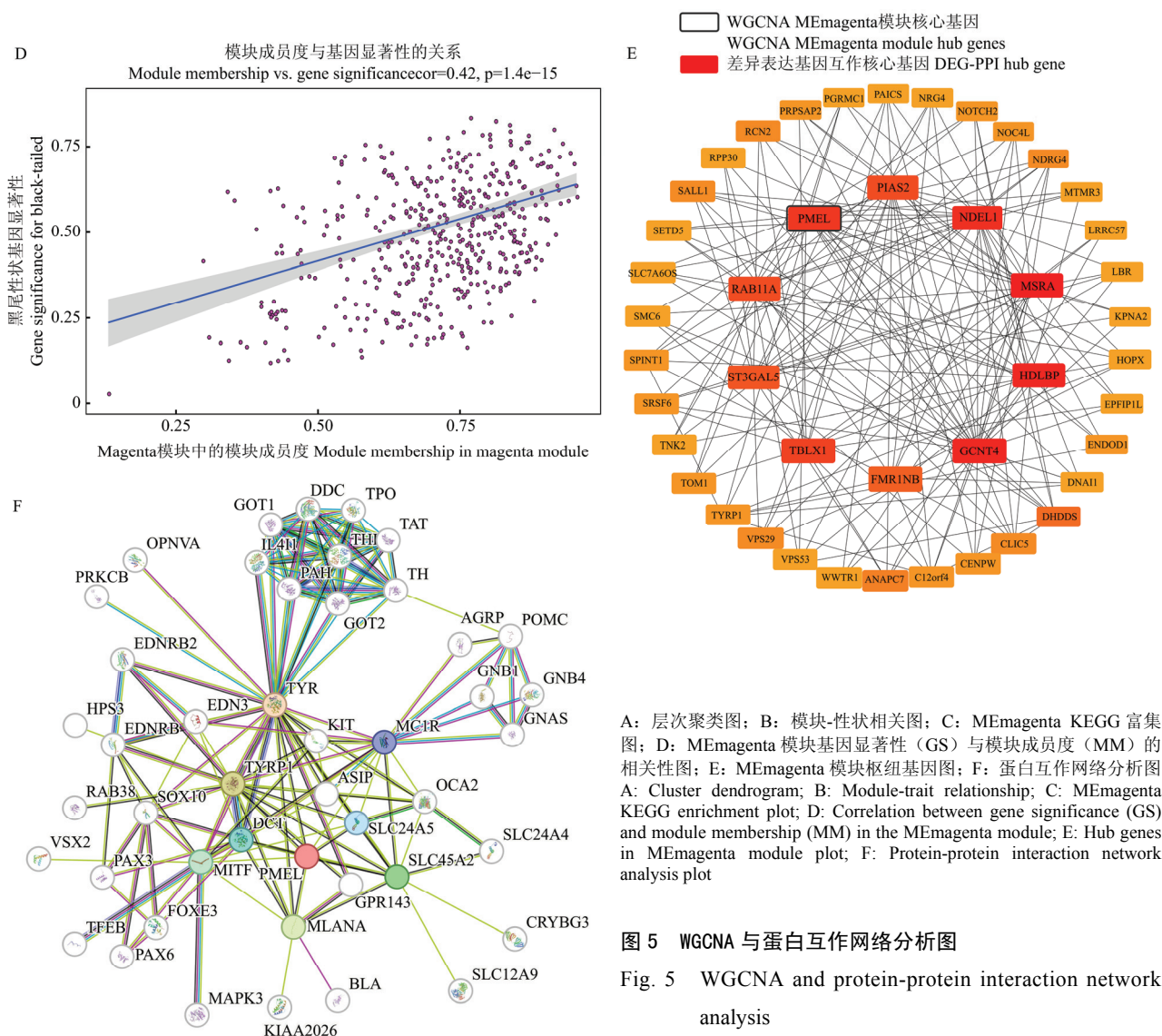
和 *NPY* 进行 qRT-PCR 验证。结果表明，黑尾鸡尾羽毛囊中 4 个基因的相对表达量显著高于白尾鸡羽毛囊($P < 0.05$)，验证了转录组分析的准确性(图 4-B)。为探究差异表达基因蛋白互作关系，利用 STRING 数据库构建差异表达基因蛋白相互作用网络，结果显示 *PMEL*、*TYR*、*TYRP1*、*MC1R*、*SLC24A5*、*MITF*、*ASIP*、*OCA2*、*DCT*、*MLANA*、*SLC45A2* 和 *NPY* 为网络中的核心基因(图 4-C)。

2.4 加权共表达网络的构建

对 12 个转录组样本进行加权基因共表达网络分析(WGCNA)，结果显示，共筛选到 25 个模块(图 5-A)，MEagenta 模块与尾羽表型有较强相关性($r=0.62$, $P=0.0069$, 图 5-B)。基因显著性(gene significance, GS)与模块成员度(module

membership, MM) 之间呈显著正相关($r = 0.42$, $P < 0.05$)，表明 MEmagenta 模块与尾羽性状密切相关(图 5-D)。为探究 MEmagenta 模块执行的功能，对该模块基因进行 KEGG 富集分析，结果表明，共注释到 8 个显著基因通路，其中与羽色形成相关通路为：Melanogenesis(map04916)与 Tyrosine metabolism (map00350) (图 5-C)。通过 Pearson 相关系数分析模块核心基因，共筛选到 10 个潜在核心基因：*PMEL*、*PIAS2*、*NDEL1*、*MSRA*、*HDLBP*、*GCNT4*、*FMR1NB*、*TBLX1*、*ST3GAL5*、*RAB11A* (图 5-E)。为验证蛋白互作情况，利用 STRING 数据库构建与羽色形成相关基因的蛋白互作网络，结果表明，*PMEL*、*TYR*、*GRIN1*、*FBL* 和 *MLANA* 为网络中的核心基因(图 5-F)。





2.5 重测序数据质控与分析

利用 Illumina 平台对 80 只 Babcock B380 黑尾和白尾群体重测序, 共获得 725.1Gb Clean Data, 与白来航鸡参考基因组 (Gallus_7w) 比对, 平均比对率为 98.74%, 平均覆盖深度为 $13\times$, 基因组覆盖度为 98.13%, 质控后共获得 11 591 543 个高质量的 SNP。

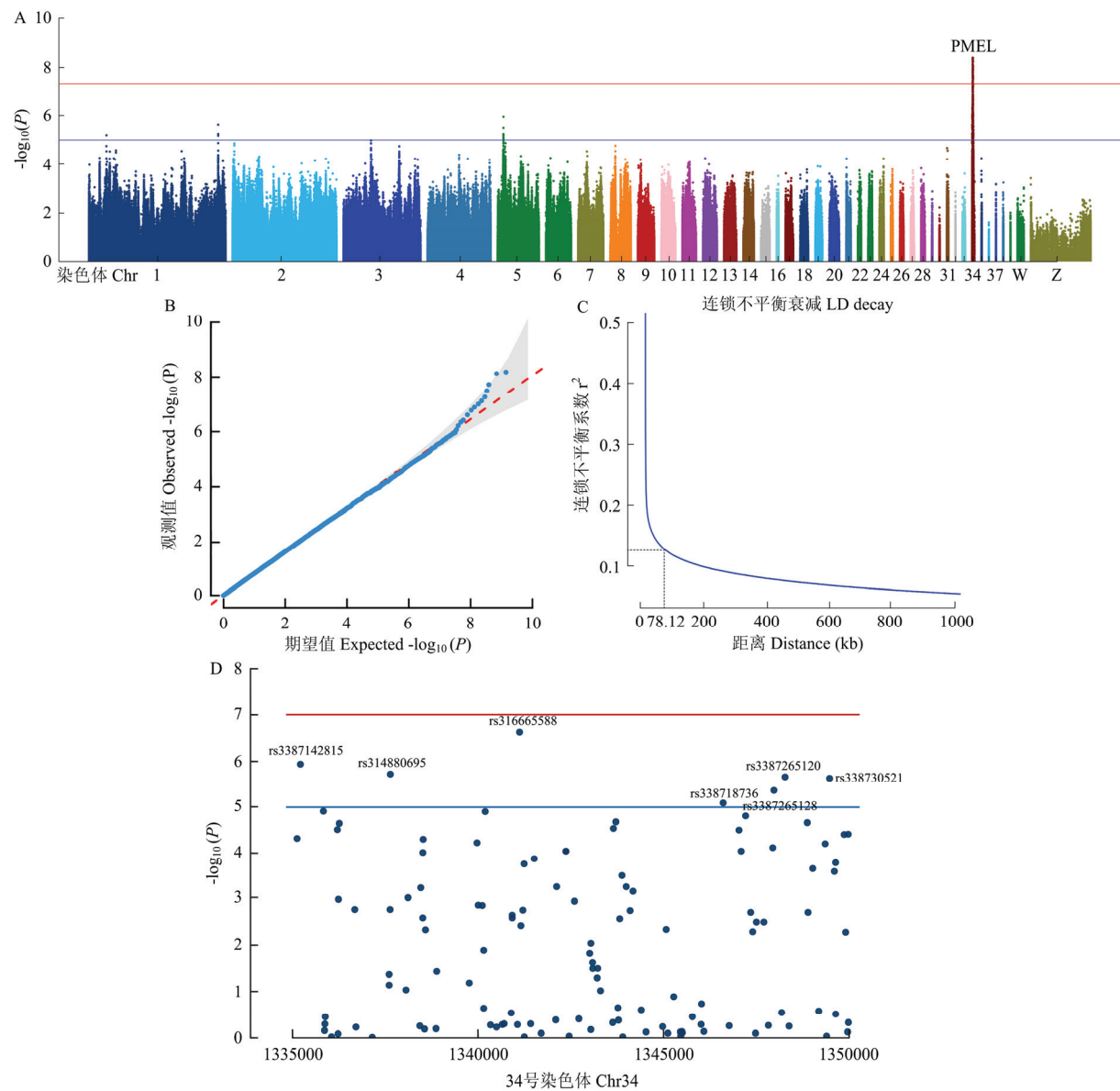
2.6 全基因组关联分析

对 80 份 Babcock B380 重测序数据进行 GWAS 分析, 结果表明, 共检测到 968 个显著 SNP 位点 (图 6-A), 分别存在于第 1、5、34 号染色体上, 其中 34 号染色体存在 948 个显著 SNP, rs3387689062 处的 SNP 显著性最高 ($-\log_{10}(P)=8.12$)。Q-Q 图显示, 观测值与期望值整体吻合, 仅在尾部明显偏离, 提示结果无明显系统性偏离 (图 6-B)。通过计算半 LD,

得出半 LD 数值为 78.12 kb (图 6-C), 根据显著 SNP 上下游 78.12 kb, 寻找候选基因, 共注释得到 221 个基因 (附表 2), 主要富集在角质形成过程, 其中与羽色形成相关基因为 *PMEL*, rs3387142815、rs314880695、rs316665588、rs3387187346、rs3387265128、rs3387265120 和 rs3387303521 为 *PMEL* 显著关联位点 (图 6-D)。

2.7 *PMEL* rs316665588 位点群体检测验证

利用 PCR-RFLP 方法, 对 160 只 Babcock B380 黑/白尾群体 *PMEL* rs316665588 位点进行统计验证 (80 黑/白), 结果显示 CC 基因型与黑尾表型显著相关, TC 基因型与白尾表型显著相关 (表 4)。利用 180 只黑白尾鸡的重测序数据, 绘制 rs316665588 位点上下游 250 bp 基因型热图。结果表明, 该位点与黑白尾羽表型显著关联, 与群体验证结果一致 (图 7)。



A: B380 黑尾和白尾表型全基因组关联分析曼哈顿图; B: QQ 图; C: 连锁不平衡图; D: PMEL SNP 曼哈顿图
A: Manhattan plot of GWAS for B380 black-tailed and white-tailed phenotypes; B: QQ plot; C: LD plot; D: PMEL SNP Manhattan plot

图 6 黑尾和白尾表型全基因组关联分析
Fig.6 GWAS of black-tailed and white-tailed phenotypes

表 4 *PMEL* rs316665588 位点基因型统计

Table 4 Genotypic distribution of the *PMEL* rs316665588 locus

	CC	TC	合计 Total
黑尾 Black-tailed	79	1	80
白尾 White-tailed	0	80	80
合计 Total	79	81	160
Fisher 检验 Fisher's exact test	1.76E ^{-45**}		

*和**分别表示显著相关和极显著相关 *: Correlation is significant at 0.05 level; **: Correlation is significant at 0.01 level

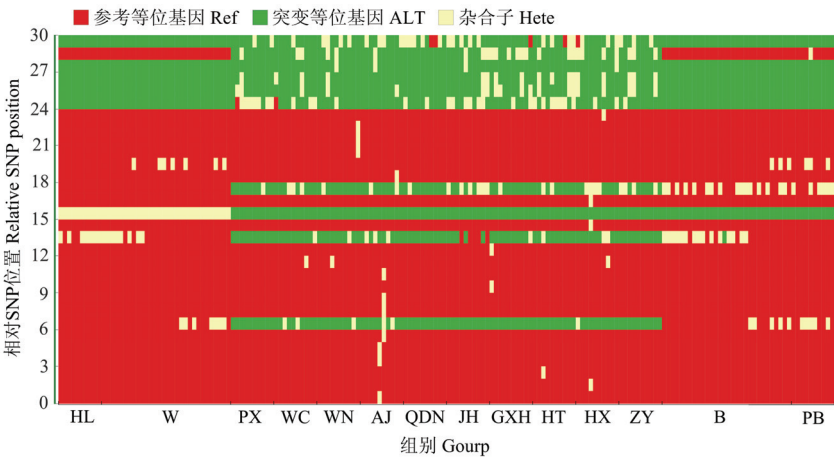


图 7 PMEL 基因型热图

Fig. 7 PMEL genotype heatmap

2.8 PMEL 密码子偏好性分析

利用 CodonW 软件, 对 *PMEL* mRNA 序列进行密码子偏好性分析 (CBI)。结果表明, rs316665588 位点 T/C 替换使密码子由 UGU 变为 UGC, RSCU 值分别为 0.13 和 1.87 (表 5)。

表 5 <i>PMEL</i> mRNA 序列密码子偏好性分析			
Table 5 Codon usage analysis of <i>PMEL</i> mRNA sequence			
氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	个数 Number	同义密码子相对使用度 Relative synonymous codon usage, RSCU
Cys	UGU	1	0.13
Cys	UGC	14	1.87

3 讨论

3.1 B380 鸡黑尾白尾组织学分析

羽色在羽毛发育过程中逐步建立, 其形成发生于羽毛生长和角化阶段^[16]。黑色素细胞在羽毛发育过程中持续向正在角化的羽毛细胞转运黑色素小体, 使黑色素成为羽毛结构的组成部分。黑色素作为鸟类羽色形成中最重要的内源性色素, 其在羽毛中的含量和分布方式被认为是决定羽色深浅的关键因素。研究表明, 较大的黑色素小体以及较高的真黑色素含量通常与深色或黑色羽毛相关, 而黑色素缺失则常见于白色羽毛^[17-18]。因此, 黑色素小体的超微结构特征及其在羽毛中的富集程度, 被认为在不同羽色表型的形成过程中发挥重要作用。在本研究中, 对 Babcock B380 黑尾和

白尾毛囊中黑色素小体的超微结构分析发现, 黑尾羽毛中总黑色素含量高于白尾, 该结果与叶宇恒研究结论相似^[19]。

在色素种类分析中, Babcock B380 黑尾和白尾毛囊中褐黑色素占比分别为 59.25% 和 57.14%。该比例与已有研究中报道深色羽中褐黑色素占比结果相似。McGraw 等^[20]在对鸟类栗褐色羽毛的研究中发现, 褐黑色素在棕褐色及相关深色羽毛中色素组成占据优势, 是该类羽色形成的主要色素类型。尽管黑尾和白尾毛囊中褐黑色素均占据相对主导地位, 但其比例差异有限, Babcock B380 黑尾形成可能更多与黑色素总体含量及其分布面积有关。

3.2 DEG 筛选与 WGCNA 枢纽基因分析

本研究通过差异表达基因分析与加权基因共表达网络分析, 系统解析了 B380 黑尾和白尾毛囊在转录调控层面的差异特征。结果显示, 共鉴定到 6 个与羽色形成相关的差异表达基因, 其中 *PMEL*、*TYR* 和 *TYRP1* 在黑尾毛囊中显著上调。已有研究表明, *TYR* 和 *TYRP1* 是黑色素小体中直接参与黑色素合成反应的核心催化酶, 构成黑色素合成的基础性酶体系^[21], 其中 *TYR* 作为限速酶启动合成过程, *TYRP1* 通过稳定并增强 *TYR* 活性保障黑色素的持续合成与沉积^[22]。*PMEL* 作为一种黑色素小体结构蛋白, 在黑色素小体早期形成纤维状基质结构, 为 *TYR*、*TYRP1* 等合成酶介导的黑色素生成与有序沉积提供必要的空间支架。在目前禽类羽色相关研究中, 多数研究将 *TYR* 和 *TYRP1* 鉴定为差异表达基因, 而较少报道 *PMEL* 的差异表达^[23]。结合 *PMEL* 在黑色素小体结构形成中的已知功能, 本研

究推测其在 Babcock B380 黑尾毛囊中可能通过维持黑素小体的结构稳定性,从而参与黑色素形成与沉积过程。

为揭示 B380 黑尾羽色形成相关的共表达基因网络,采用 WGCNA 构建共表达模块,并筛选与黑尾性状相关的关键模块及枢纽基因。结果表明,在 MEmagenta 模块中, *TYR*、*TYRP1*、*PMEL* 与 *MLANA* 显著共表达,其中 *PMEL* 同时是该模块及差异表达基因蛋白相互作用网络中的核心基因,因此是黑白羽色形成相关的关键候选基因。该结果与 Khalil 等^[24-25]的研究结论相似,均鉴定到 *PMEL*、*TYRP1* 和 *TYR* 在同一共表达模块中富集,提示上述基因共同参与黑色素形成过程,呈现协同表达特征。此外,本研究在 MEmagenta 模块中进一步鉴定到 *MLANA* 的共表达。*MLANA* 是一种黑色素瘤相关抗原,已被证实在黑色素瘤细胞、黑色素细胞及视网膜色素上皮细胞中表达^[26]。已有研究表明, *MLANA* 可通过稳定 G 蛋白偶联受体 *GPR143* 促进黑素小体形成,而 *GPR143* 的稳定性对 *PMEL* 的正常表达及功能维持至关重要,同时其还能与 *PMEL* 相互作用,被认为是黑色素沉着必需的组成成分^[27]。因此在功能上推测, *MLANA*、*PMEL* 与 *TYR/TYRP1* 在黑色素形成过程中可能存在功能关联,有助于黑色素的生成与沉积,具体的调控机制仍需通过实验进一步验证。

3.3 B380 尾羽颜色全基因组关联分析

目前,全基因组关联分析技术已广泛应用于家禽育种研究,用于解析复杂性状的遗传机制。该技术通过检测多个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点与目标性状之间的关联,从而识别与性状显著相关的遗传变异^[28]。已有研究表明,调控鸡尾羽颜色性状位点主要分布于 24 号染色体, *MCAM* 是鸡黑白尾羽颜色的重要候选基因^[11]。本研究在 34 号染色体上识别到多个候选位点,但仅发现与羽色通路相关的 *PMEL* 呈现显著关联,结合转录组及 WGCNA 分析结果,进一步确定 *PMEL* 为 Babcock B380 黑白尾群体的重要候选基因。*PMEL* 作为黑素小体的结构蛋白,主要在黑色素细胞中表达,参与黑素小体的成熟,并有助于稳定地储存黑色素前体物质^[29-30]。本研究对 GWAS 中 *PMEL* 的显著位点进行 PCR-RFLP 检测与群体重测序检测后,发现 rs316665588 T/C 同义突变与黑白尾羽表型显著相关,且在黑白尾群体中表现出分布差异。

已有研究表明, *PMEL* 突变对家禽羽毛颜色的形成具有重要影响^[31-32],且与显性白羽性状密切相关。具体而言,第 10 外显子 9 碱基的插入和第 6 外显子 12 碱基的缺失是导致显性白、丹麦白、烟白等羽色变异的遗传原因^[33]。与前人结果相比,本研究未在 Babcock B380 黑白尾群体中检测到 *PMEL* 的插入缺失突变,而 rs316665588 位点在该群体中与黑白尾羽表型呈现显著相关性,因此 rs316665588 T/C 同义突变可能是该群体黑白尾羽表型重要候选位点。在本研究中,rs316665588 所在的连锁不平衡 (LD) 区段除包含 *PMEL* 外,还涵盖 *RAB5B* 和 *CDK2* 等基因。其中, *RAB5B* 参与细胞内膜性囊泡运输过程^[34],而 *CDK2* 在细胞周期调控中发挥重要作用^[35]。密码子偏好性分析发现 rs316665588 位点突变导致 UGU 密码子第三位的 U 变为 C,形成 UGC 密码子。具体来说,UGU 密码子的偏好性为 0.13,而 UGC 密码子的偏好性则为 1.87。密码子偏好性反应不同同义密码子使用偏向,当宿主细胞中的某个密码子频率较高时,相应的 tRNA 水平较高,翻译速率也会更快,从而有利于蛋白质的表达^[36]。大量研究表明,同义突变可能通过形成宿主偏好型密码子,提高基因的翻译效率,影响蛋白质功能,从而导致表型变化^[37-38]。由于尚未对该位点进行实验验证, *PMEL* rs316665588 位点的功能机制仍需进一步研究。由于测序样本数量有限,且研究对象仅涉及 Babcock B380 黑白尾群体,本研究结果仍需在更大规模及不同群体材料中加以验证。此外, *PMEL* rs316665588 T/C 同义突变尚缺乏功能层面的实验支持,其潜在作用机制有待在后续研究中进一步探究。

4 结论

本研究结合组织学、基因组学和转录组学方法,鉴定了与 Babcock B380 鸡黑、白尾羽色相关候选基因及组织学特征。结果表明,黑尾鸡毛囊中的黑素小体主要分布于羽轴区域,其沉积面积显著高于白尾鸡毛囊。转录组分析表明, *PMEL*、*TYR*、*TYRP1* 和 *SLC45A2* 在黑尾毛囊中高表达, WGCNA 分析表明 MEmagenta 模块与尾羽颜色显著相关,且 *PMEL*、*PIAS2*、*NDEL1*、*MSRA*、*HDLBP*、*GCNT4*、*FMR1NB*、*TBLX1*、*ST3GAL5*、*RAB11A* 为该模块核心基因。*PMEL* rs316665588 T/C 纯合突变位点与黑尾表型显著相关,该突变导致稀有密码子 UGU 变为常见密码子 UGC,是黑白尾形成重要候选位点。

致谢: 感谢河北科技师范学院分析测试中心组学平台为本研究提供服务器计算资源支持。

文章附图附表请见本刊官网:

<https://www.chinaagrisci.com/CN/0578-1752/home.shtml>

参考文献 References

- [1] 李东华, 付亚伟, 张晨曦, 曹艳芳, 李文婷, 李转见, 康相涛, 孙桂荣. 浙川乌骨鸡全基因组转座子的鉴定与分析[J]. 中国农业科学, 2020, 53(7): 1491-1500. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2020.07.017. Li D H, Fu Y W, Zhang C X, Cao Y F, Li W T, Li Z J, Kang X T, Sun G R. Genome-wide identification and characterization of transposable elements in Xichuan black-bone chicken [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2020, 53(7): 1491-1500. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2020.07.017. (in Chinese)
- [2] D'Alba L, Van Hemert C, Spencer K A, Heidinger B J, Gill L, Evans N P, Monaghan P, Handel C M, Shawkey M D. Melanin-based color of plumage: Role of condition and of feathers' microstructure [J]. Integrative and Comparative Biology, 2014, 54(4): 633-644.
- [3] Ito S, Wakamatsu K. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: A comparative review [J]. Pigment Cell Research, 2003, 16(5): 523-531.
- [4] Cao W, Zhou X H, McCallum N C, Hu Z Y, Ni Q Z, Kapoor U, Heil C M, Cay K S, Zand T, Mantanona A J, Jayaraman A, Dhinojwala A, Deheyn D D, Shawkey M D, Burkart M D, Rinehart J D, Gianneschi N C. Unraveling the structure and function of melanin through synthesis [J]. Journal of the American Chemical Society, 2021, 143(7): 2622-2637.
- [5] 赵兵令, 李亚楠, 陈天直, 刘颖, 常露程, 范瑞文, 薛霖莉, 王海东, 董常生. *GPNMB* 通过调控 *MITF* 下游色素相关基因表达影响黑色素细胞色素的生成[J]. 中国农业科学, 2017, 50(7): 1334-1342. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2017.07.016. Zhao B L, Li Y N, Chen T Z, Liu Y, Chang L C, Fan R W, Xue L L, Wang H D, Dong C S. *GPNMB* affects melanin synthesis in the melanocytes via *MITF* to regulate the downstream pigmental genes [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(7): 1334-1342. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2017.07.016. (in Chinese)
- [6] Mastrangelo S, Cendron F, Sottile G, Niero G, Portolano B, Biscarini F, Cassandro M. Genome-wide analyses identifies known and new markers responsible of chicken plumage color [J]. Animals, 2020, 10(3): 493.
- [7] Wang X L, Li D H, Song S F, Zhang Y H, Li Y F, Wang X N, Liu D L, Zhang C X, Cao Y F, Fu Y W, Han R L, Li W T, Liu X J, Sun G R, Li G X, Tian Y D, Li Z J, Kang X T. Combined transcriptomics and proteomics forecast analysis for potential genes regulating the Columbian plumage color in chickens [J]. PLoS ONE, 2019, 14(11): e0210850.
- [8] Zheng X T, Zhang B, Zhang Y W, Zhong H A, Nie R X, Li J Y, Zhang H, Wu C X. Transcriptome analysis of feather follicles reveals candidate genes and pathways associated with pheomelanin pigmentation in chickens [J]. Scientific Reports, 2020, 10: 12088.
- [9] Peng S C, Zhang L, Ali S, Lin S D, Liao Z G, Peng Q Q, Xie P P, Zhang Z H. Whole genome resequencing uncovers candidate genes related to plumage color in Yuexi frizzled feather chicken [J]. Poultry Science, 2025, 104(11): 105680.
- [10] Yang L J, Zhao W, Chen S Y, Xue L, Tian J L, Xu H R, Zhang H B, Wang H, Gu Y L, Zhang J. Whole genome resequencing reveals genetic markers for plumage colour in Jingyuan Chicken [J]. Poultry Science, 2025, 104(11): 105666.
- [11] Nie C S, Qu L, Li X H, Jiang Z H, Wang K H, Li H Y, Wang H E, Qu C Q, Qu L J, Ning Z H. Genomic regions related to white/black tail feather color in dwarf chickens identified using a genome-wide association study [J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 566047.
- [12] Zheng X T, Chen J F, Nie R X, Miao H H, Chen Z W, He J H, Xie Y K, Zhang H. Differential expression of ASIP transcripts reveals genetic mechanism underpinning black-tail independence from body plumage in yellow-bodied chickens [J]. Animal Genetics, 2024, 55(2): 249-256.
- [13] Zhou X, Stephens M. Genome-wide efficient mixed-model analysis for association studies [J]. Nature Genetics, 2012, 44(7): 821-824.
- [14] Otasek D, Morris J H, Bouças J, Pico A R, Demchak B. Cytoscape Automation: Empowering workflow-based network analysis [J]. Genome Biology, 2019, 20(1): 185.
- [15] Chen C J, Wu Y, Li J W, Wang X, Zeng Z H, Xu J, Liu Y L, Feng J T, Chen H, He Y H, Xia R. TBtools-II: A "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. Molecular Plant, 2023, 16(11): 1733-1742.
- [16] Soliman S A. Morphological and histochemical description of quail feather development [J]. The Anatomical Record, 2020, 303(7): 1865-1883.
- [17] Eliason C M, Shawkey M D, Clarke J A. Evolutionary shifts in the melanin-based color system of birds [J]. International Journal of Organic Evolution, 2016, 70(2): 445-455.
- [18] Rubenstein D R, Corvelo A, MacManes M D, Maia R, Narzisi G, Rousaki A, Vandenabeele P, Shawkey M D, Solomon J. Feather gene expression elucidates the developmental basis of plumage iridescence in African starlings [J]. Journal of Heredity, 2021, 112(5): 417-429.

- [19] 叶宇恒. 固原乌鸡黑色素分布沉积特征及酪氨酸对其组织黑色素含量与黑色素合成相关基因表达量的影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2023.
- Ye Y H. Distribution and deposition characteristics of melanin in Guyuan black-bone chicken and the effect of tyrosine on melanin content and expression of genes related to melanin synthesis in its tissues [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2023. (in Chinese)
- [20] McGraw K J, Safran R J, Wakamatsu K. How feather colour reflects its melanin content [J]. *Functional Ecology*, 2005, 19(5): 816-821.
- [21] Nakamura H, Fukuda M. Establishment of a synchronized tyrosinase transport system revealed a role of Tyrp1 in efficient melanogenesis by promoting tyrosinase targeting to melanosomes [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14: 2529.
- [22] Wang F F, Ma W J, Fan D J, Hu J, An X H, Wang Z D. The biochemistry of melanogenesis: An insight into the function and mechanism of melanogenesis-related proteins [J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2024, 11: 1440187.
- [23] Liu X H, Zhou R Y, Peng Y D, Zhang C S, Li L H, Lu C X, Li X L. Feather follicles transcriptome profiles in Bashang long-tailed chickens with different plumage colors [J]. *Genes & Genomics*, 2019, 41(11): 1357-1367.
- [24] Khalil S, Enbody E D, Frankl-Vilches C, Welklin J F, Koch R E, Toomey M B, Sin S Y W, Edwards S V, Gahr M, Schwabl H, Webster M S, Karubian J. Testosterone coordinates gene expression across different tissues to produce carotenoid-based red ornamentation [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2023, 40(4): msad056.
- [25] Pan R, Hua T, Ding Y F, Bai H, Jiang Y, Wang Z X, Hu M, Chen G H, Wu X S, Chang G B. Study on changing disciplinarian of beak colors in ducks and the regulation network based on transcriptome sequencing [J]. *Poultry Science*, 2024, 103(2): 103266.
- [26] Du J Y, Miller A J, Widlund H R, Horstmann M A, Ramaswamy S, Fisher D E. MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma [J]. *The American Journal of Pathology*, 2003, 163(1): 333-343.
- [27] Bai R M, Yin P, Xing Z X, Wu S B, Zhang W, Ma X Y, Gan X Y, Liang Y X, Zang Q J, Lei H, Wei Y, Zhang C N, Dai B L, Zheng Y. Investigation of GPR143 as a promising novel marker for the progression of skin cutaneous melanoma through bioinformatic analyses and cell experiments [J]. *Apoptosis*, 2024, 29(3): 372-392.
- [28] 骆娜, 安炳星, 魏立民, 文杰, 赵桂苹. 全基因组关联分析筛选文昌鸡体尺性状相关分子标记[J]. *中国农业科学*, 2024, 57(10): 2046-2060. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2024.10.015.
- Luo N, An B X, Wei L M, Wen J, Zhao G P. Identification of molecular markers associated with body size traits through genome-wide association analysis in Wenchang chickens [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(10): 2046-2060. DOI: 10.3864/j.issn.0578-1752.2024.10.015. (in Chinese)
- [29] Bissig C, Rochin L, van Niel G. PMEL amyloid fibril formation: The bright steps of pigmentation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(9): 1438.
- [30] dos Santos Videira I F, Moura D F L, Magina S. Mechanisms regulating melanogenesis [J]. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 2013, 88(1): 76-83.
- [31] Makarova A V, Mitrofanova O V, Vakhrameev A B, Dementeva N V. Molecular-genetic bases of plumage coloring in chicken [J]. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 2019, 23(3): 343-354.
- [32] Hua G Y, Chen J F, Wang J K, Li J Y, Deng X M. Genetic basis of chicken plumage color in artificial population of complex epistasis [J]. *Animal Genetics*, 2021, 52(5): 656-666.
- [33] Kerje S, Sharma P, Gunnarsson U, Kim H, Bagechi S, Fredriksson R, Schütz K, Jensen P, von Heijne G, Okimoto R, Andersson L. The dominant white, dun and smoky color variants in chicken are associated with insertion/deletion polymorphisms in the PMEL17 gene [J]. *Genetics*, 2004, 168(3): 1507-1518.
- [34] Palma C, Lai A, Scholz-Romero K, Chittoory H, Van Haeringen B, Carrion F, Handberg A, Lappas M, Lakhani S R, McCart Reed A E, McIntyre H D, Nair S, Salomon C. Differential response of placental cells to high D-glucose and its impact on extracellular vesicle biogenesis and trafficking *via* small GTPase Ras-related protein RAB-7A [J]. *Journal of Extracellular Biology*, 2024, 3(1): e135.
- [35] Massacci G, Perfetto L, Sacco F. The Cyclin-dependent kinase 1: More than a cell cycle regulator [J]. *British Journal of Cancer*, 2023, 129(11): 1707-1716.
- [36] Liu Y, Yang Q, Zhao F Z. Synonymous but not silent: The codon usage code for gene expression and protein folding [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2021, 90: 375-401.
- [37] Bartoszewski R, Króliczewski J, Piotrowski A, Jasiecka A J, Bartoszevska S, Vecchio-Pagan B, Fu L W, Sobolewska A, Matalon S, Cutting G R, Rowe S M, Collawn J F. Codon bias and the folding dynamics of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator [J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2016, 21(1): 23.
- [38] Xin T X, Zhang Z, Zhang Y Y, Li X T, Wang S H, Wang G Q, Li H X, Wang B W, Zhang M Z, Li W J, Tian H J, Zhang Z H, Xiao Y L, Tang W X, He C, Ding Y L, Huang S W, Yang X Y. Recessive epistasis of a synonymous mutation confers cucumber domestication through epitranscriptomic regulation [J]. *Cell*, 2025, 188(17): 4517-4529.e15.

(责任编辑 林鉴非)