

农业 SNP 芯片分型 在动植物分子育种中的应用



单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism) 作为第三代分子标记, 在分子育种相关过程中的许多方面具有重要作用。对已有目录芯片的物种可直接进行 SNP 检测。但如果研究者研究的物种还没有目录化 SNP 芯片, 或者目录芯片 SNP 位点不能有效代表研究者关注的特有品种或性状的信息时, 需要先进行 SNP 芯片的定制。

通过 SNP 分型, 一方面可利用 QTL 定位、GWAS、选择信号分析等策略找到与性状相关的 SNP 标记位点, 用于分子标记辅助育种, 另一方面在全基因组水平采用基因组选择方法进行分子育种。

1 技术流程

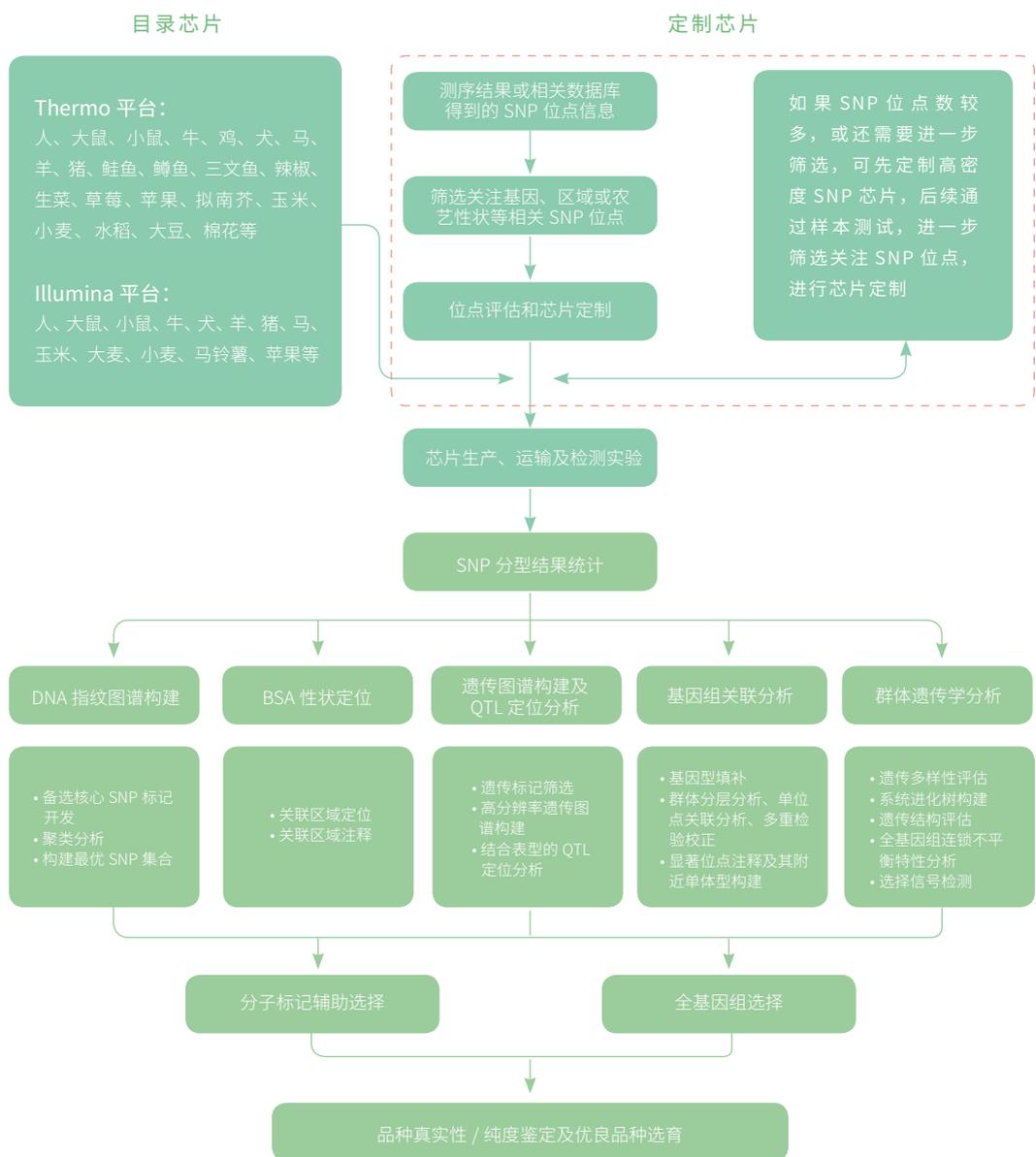


图 1 项目流程图

2 产品优势



表 1 博奥晶典已完成的 SNP 定制芯片项目（部分）

单位	物种	芯片密度
中国农业科学院	小麦	660K/55K/50K
中国农业科学院	玉米	55K
中国科学院遗传所	大豆	600K
南京农业大学	大豆	355K
北京农林科学院	桃	200K
郑州烟草研究所	烟草	300K
江西农业大学	猪	1.2M



图 2 SNP 芯片定制—检测—分析—验证一体化流程

3 产品应用方向



分子标记辅助选择
及基因组选择



GWAS、遗传图谱
构建及 QTL 定位



群体基因组学、选择性
清除及遗传多样性研究



品种资源鉴定、
物种指纹图谱构建

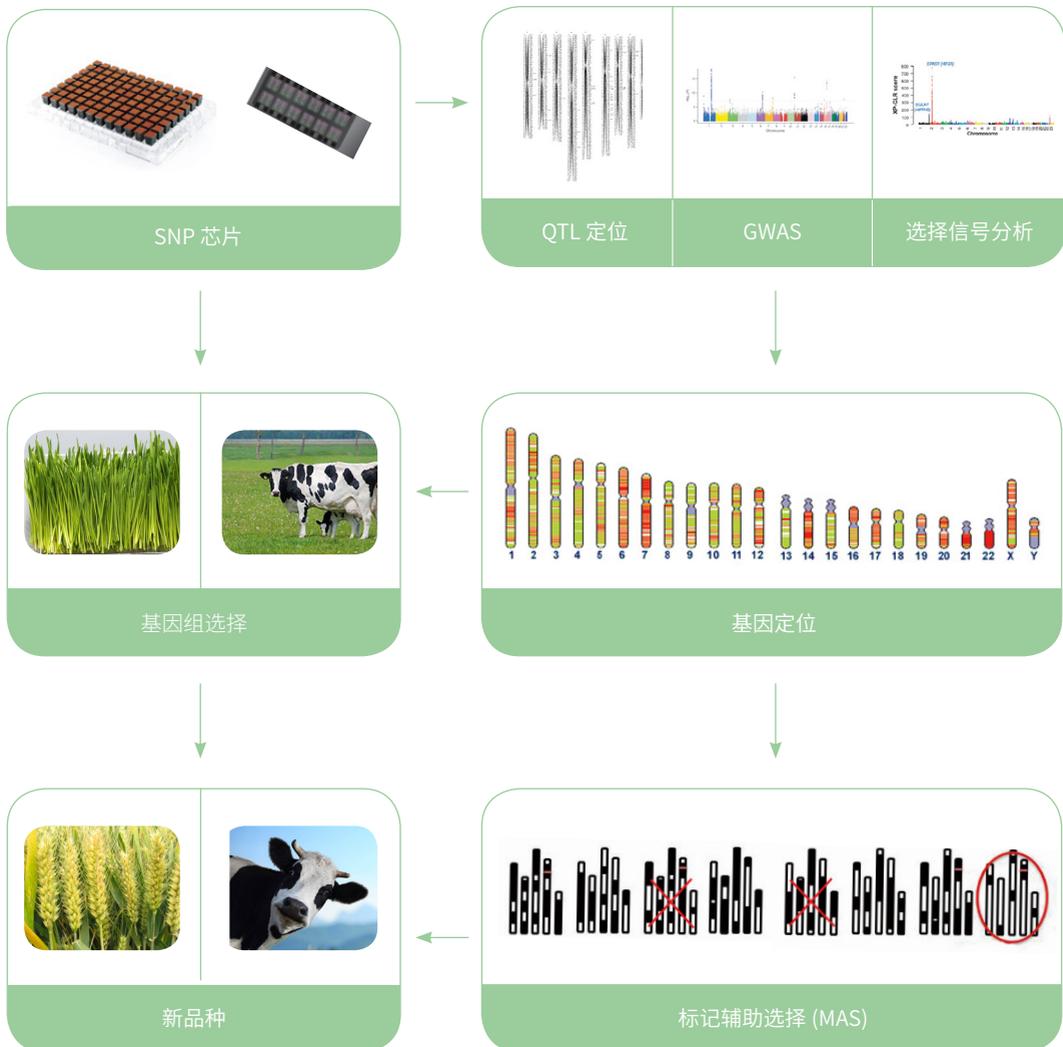


图 3 SNP 芯片用于分子育种流程

4 博奥晶典 SNP 定制芯片项目

小麦 660K SNP 芯片

小麦是重要的粮食作物，在我国粮食生产中的地位仅次于水稻。贾继增老师课题组综合运用 *De novo* 组装、重测序等策略对 111 个普通小麦、2 个四倍体小麦以及 3 个 A 基因组与 2 个 D 基因组共计 118 个小麦及其近缘属种进行高通量测序，获得 6Tb 数据，用中国春 survey sequence 为参考序列采用严格标准经过生物信息学分析获得 5,138 万个 SNP，与北京博奥晶典生物技术有限公司合作，经过生物信息学筛选和芯片预实验，最后形成小麦 660K SNP 芯片。

产品优势

● 通量高

可检测 >60 万个 SNP 位点，六倍体普通小麦中 Call rate > 95% (图 4)，是目前有效检测位点最多的一款小麦 SNP 芯片。

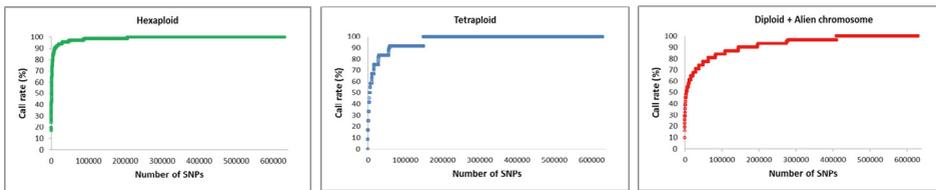


图 4 call rate of probes on the array across different accessions

● 多态性高

小麦 660K SNP 芯片的高多态性且高分辨率的标记比例为 58.9%，在一个双亲群体上通常能定位 10~20 万个标记；多样性 SNP 标记及可用 SNP(包括 PolyHighResolution, NoMinorHom 和 OTV 三类)比例高：在自然群体中(66 份普通小麦)，这三类 SNP 标记占芯片总位点数的 65.35% (图 5)。

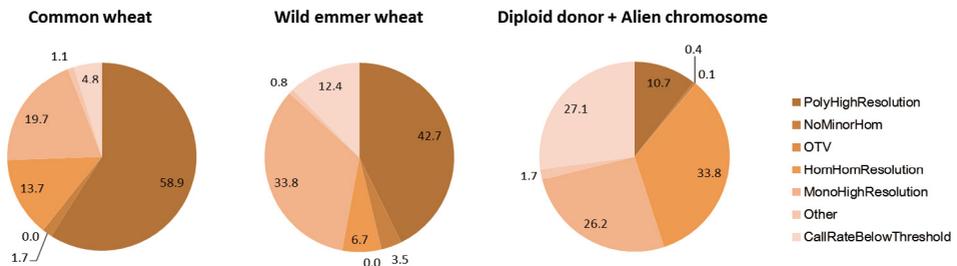


图 5 Categories of SNP probes across different accessions

- 准确性高

升级后的小麦 660K 芯片，标记经过筛选，淘汰了分辨不清的标记，增加了更多有价值的及最新注释的标记，所有筛选后的标记均清晰可辨。

- 性价比高

在现有小麦 SNP 标记检测中最为便宜。

- 注释清晰

绝大多数 SNP 探针物理位置和遗传位置信息齐全，为进一步深入分析研究奠定了基础。

产品参数

全基因组范围覆盖	标记分布均匀
660,009 个 SNP 标记	覆盖拥有小麦抗病性、抗逆性与适应性等优良性状的 D 基因组，标记间的物理距离平均为 25Kb，距离 > 1Mb 的标记少于总数的万分之五。

应用方向

小麦 660K 芯片可广泛用于小麦基因组、种质资源、分子育种等各项研究中。主要包括：

1

绘制高密度遗传图

2

新基因发掘、基因精细作图与克隆、QTL 分析

3

外源染色体（片段）检测

4

主栽品种、骨干亲本基因组结构分析与小麦基因组育种

5

小麦基因与环境互作关系分析

6

小麦族不同物种比较基因组进化关系分析

7

种质资源多样性、单倍型、重组率分析与图谱绘制、驯化与选择位点分析

小麦 660K SNP 芯片应用案例

小麦黑点病 GWAS 分析

利用小麦 660K 和 90K 高分辨率 SNP 芯片，对 166 份黄淮麦区重要推广品种和高代品系进行基因型检测，并开展群体结构分析和全基因组关联分析（GWAS）。

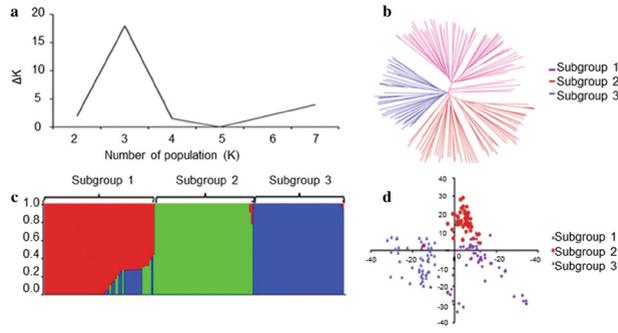


图 6 166 个小麦群体结构分析

结合 5 个环境下的田间表型数据，采用经典的 Tassel MLM 模型和较为严谨的 FarmCPU 共同进行 GWAS 分析发掘黑胚病显著关联位点，选择在两种模型中均存在的位点作为最终结果。共计检测到 25 个位点，位于 2A、2B、3A、3B (2)、3D、4B (2)、5A (3)、5B (3)、6A、6B、6D、7A (5)、7B 和 7D (2) 染色体上，分别解释 7.9 到 18.0% 的表型变异。在发现的位点中，13 个位点在多个环境下存在，均有稳定的遗传效应，7 个位点与前人研究结果一致，18 个位点为全新位点。

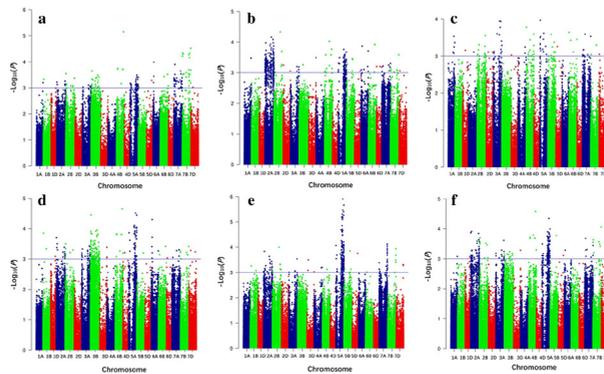


图 7 利用 Tassel v5.0 软件的混合线性模型（MLM）对 166 个小麦的黑点病抗性进行全基因组关联分析（GWAS）

该研究不仅为小麦黑胚病抗性育种提供 SNP 分子标记和抗性等位基因，而且为黑胚病抗性反应的遗传机制提供新的线索。

Liu J, *et al.* Genome-wide association mapping of black point reaction in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol*, 2017, 17(1):220.

— 小麦 55K SNP 芯片 —

小麦 55K SNP 芯片是由中国农科院作物科学研究所小麦基因组与基因资源研究团队在小麦 660K SNP 芯片的基础上开发的一款经济型中密度 SNP 芯片。

产品优势

● 有效标记多

标记都是从小麦 660K SNP 芯片中精选出来的，经过了数千份材料的检验，有效标记的比例非常高。

● 标记信息丰富

小麦 55K SNP 芯片为我国自己独立开发的有完全自主知识产权的小麦芯片，具有完整而详细的基因组信息（标记在小麦基因组中的位置，序列信息等），用户可免费使用这些信息，方便咨询，有利于开展进一步深入研究。

● 应用价值高

由于芯片中标记数量多且分布较均匀，因此标记与绝大部分目标性状基因紧密连锁或共分离，具有更高的利用价值。

● 性价比高

与国外同类芯片相比，价位相差无几，但有效标记数大约是国外芯片的 2 倍，因此拥有比较高的性价比。

产品参数

全基因组范围覆盖	标记分布均匀
55,000 个 SNP 标记	标记均匀分布在 21 条染色体上，每条染色体上平均有 2,600 个 SNP 左右，标记间的平均遗传距离为 0.1cM，平均物理距离小于 300Kb

应用方向

1

种质资源多样性分析

2

遗传作图与新基因发掘

3

比较基因组分析

4

品种注册与鉴别（指纹分析）

小麦 55K SNP 芯片应用案例

定位小麦分蘖数时间表达主要 QTL

最大分蘖数和有效分蘖数是小麦籽粒产量的重要性状，但涉及不同数量性状基因座 (QTL) 水平上分蘖数的时间表达的研究十分有限。研究以 Chuan-Nong18 和 T1208 为亲本，构建了包含 371 个样本的重组自交系，利用小麦 55K SNP 芯片进行分型并构建高密度遗传图谱。并且对 4 个成长阶段的分蘖数量进行动态 QTL 分析。构建了包含 11,583 个 SNP 标记和 59 个 SSR 标记的高密度遗传图，所述标记跨越 4,513.95cM 并分布在 21 个小麦染色体上。

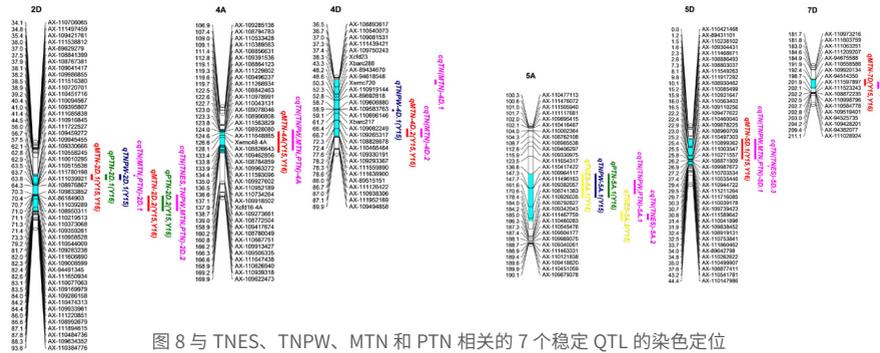


图 8 与 TNES、TNPW、MTN 和 PTN 相关的 7 个稳定 QTL 的染色体定位

在重组自交系群体中共鉴定出 28 个单环境 QTL，其中 7 个 QTL 稳定并用于多环境和动态分析。这些 QTL 分别被定位到染色体 2D，4A，4D，5A，5D 和 7D。动态分析显示根据侧翼的物理位置，可以在分蘖的四个生长阶段检测到 cqTN-2D.2，它能够阐明 4.92-17.16% 的表型变异，共跨越了 13.71M 的长度。稳定 QTL 的效应在重组自交系群体中得到验证，有利的等位基因可用于未来的标记辅助选择。结果表明，利用小麦 55K SNP 芯片能够高效的构建小麦高密度遗传图谱。

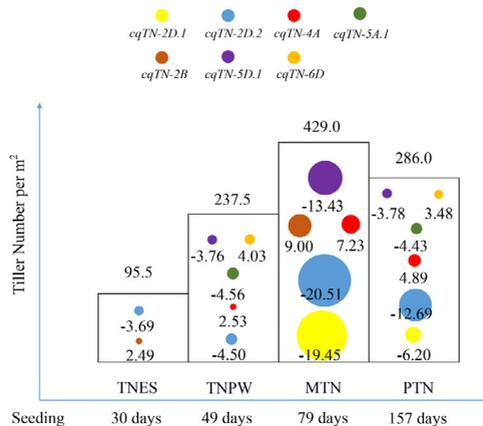


图 9 TN 四个生长阶段的动态 QTL 分析

Tianheng Ren, et al. Utilization of a Wheat55K SNP Array for Mapping of Major QTL for Temporal Expression of the Tiller Number. *Frontiers in Plant Science*. 2018,9:333.

— 玉米 55K SNP 芯片 —

玉米是我国第一大粮食作物和饲料作物。中国农业科学院作物科学研究所玉米分子育种技术和应用创新团队与博奥晶典生物技术有限公司、南通新禾生物技术有限公司合作，运用 Thermo Fisher Axiom 平台联合开发了玉米 55K SNP 芯片。该芯片具有高密度、低成本、全覆盖、多用途的特点，可以用于玉米遗传作图、种质资源鉴定、基因定位、分子标记辅助育种等各项研究中。北京博奥晶典生物技术有限公司被授权为玉米 55K SNP 芯片独家代理商。

产品优势



产品参数

SNP 位点来源	SNP 数量
Axiom 玉米 660K SNP 芯片	30133
Illumina 玉米 50K SNP 芯片	10768
368 个玉米自交系 RNA-seq 结果中挑选的位点	9395
B73 参考基因组没有覆盖的位点	4067
杂种优势群体间差异性位点	734
转基因事件标签位点	132
总计	55229

玉米开花相关性状 GWAS 分析

研究群体由 **724 个杂交株系** 组成，来源于 **28 个温带玉米自交系** 和 **23 个热带玉米自交系**。基于该群体，利用 55K SNP 芯片产生的基因型数据和开花性状（播种-抽雄的天数、播种至吐丝的天数、播种至开花的天数、开花-吐丝间隔期）进行 GWAS 分析。通过分析，**鉴定出与开花性状有关的 5 个基因组区域**，并用于候选基因和数量性状核苷酸的挖掘。此外，对 51 个玉米自交系进行深度重测序，获得了 790 万个 SNP 标记，为更高分辨率的 GWAS 打下基础。

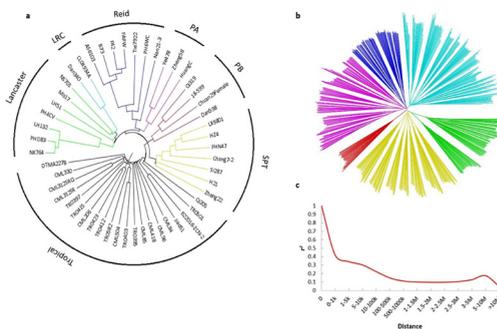


图 10 51 个亲本自交系和 724 个多系杂交群体 NJ 树图及整个基因组的 LD 衰减图

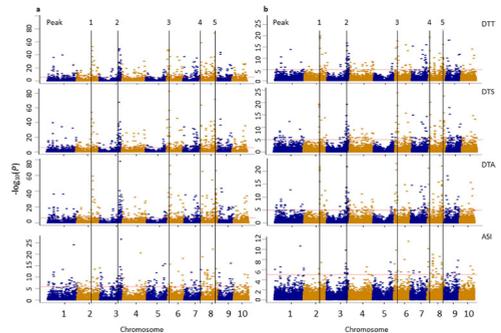


图 11 对 MHP 群体的 4 个开花性状进行 GWAS 分析，通过 GWAS 分析，在基因组上得到了 5 个显著相关的区域

Hui Wang, *et al.* Development of a multiple-hybrid population for genome-wide association studies: theoretical consideration and genetic mapping of flowering traits in maize. *Scientific reports*, 2017, 7: 40239.

5 博奥晶典项目经验

2012~2018 年 7 月，博奥生物支持客户发表农林牧渔及微生物领域的 SCI 文章共 424 篇。涉及的研究单位包括中国农业科学院、中国科学院、中国农业大学、中国科学与技术大学、浙江农科院、浙江大学、西南大学、苏州大学、四川农业大学、山东大学、南开大学、南京农业大学、华中农业大学、华南农业大学、广州农科院、广州大学、贵州烟草研究所、扬州大学等；涉及的研究物种包括水稻、番茄、柑橘、棉花、拟南芥、猪、羊、鸡、家蚕、斑马鱼、类芽孢杆菌、假单胞菌等；在 DNA、mRNA、miRNA 等不同的分子水平进行不同方向的研究，如：抗逆抗病机制研究、药物抗性与作用效果研究、目标基因调控机理研究、组织器官发育时空特异性研究、品种差异研究等。

博奥晶典控股成员



北京博奥晶典生物技术有限公司

地址：北京市经济技术开发区科创六街生物医药园 C 座 邮编：101111 电话：010-69002900 传真：010-69002988 客服：400-9968-999
<http://www.capitalbiotech.com>

