

DOI: 10.3724/SP.J.11118.2021.20124

中国明对虾钙调磷酸酶基因 calcineurin B 表达量的遗传变异分析

李波波^{1,2}, 孔杰^{2,3}, 卢霞^{2,3}, 孙犁^{1,2}, 隋娟^{2,3}, 刘绵宇^{2,3}, 罗坤^{2,3}, 孟宪红^{2,3},
陈宝龙^{2,3}, 曹宝祥^{2,3}, 刘宁^{2,3}, 栾生^{2,3}

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;
3. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071

摘要: 为了评估中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)核心育种群体 calcineurin B 基因(*FcCN-B*)表达量的遗传变异水平, 从 2018 年构建的 G13 群体中随机选取 32 个家系, 每个家系随机选择 20 尾个体, 分别放入 20 个网箱中(每个网箱包括 32 尾虾), 限制饲料投喂量, 利用 Real-time PCR 方法检测每尾虾神经节组织中 *FcCN-B* 基因的表达量。结果表明, *FcCN-B* 基因在个体水平上表达明显呈正偏态分布, 均值(8.25)大于中位数(6.95), 表明存在极大值个体; 极差为 43.48, 最大值是最小值的 44.48 倍, 个体间表达量的变异系数为 66.55%。家系间 *FcCN-B* 表达量的变异系数相对较小(19.31%), 最大值仅为最小值的 2.20 倍。单因素方差分析表明, *FcCN-B* 基因的表达量在家系水平上差异显著($P<0.05$)。利用个体动物模型结合系谱信息, 获得 *FcCN-B* 基因表达量的遗传力估计值为 0.60 ± 0.13 。这表明其在育种群体中具有较高的遗传变异水平, 遗传改良的潜力大。研究结果为解析中国明对虾竞争行为的分子机理、改良其竞争性提供了重要的参考数据。

关键词: 中国明对虾; 钙调神经磷酸酶 B 亚基基因; 基因表达; 遗传力; 遗传变异

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)01-0012-07

中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)是我国的本土养殖种类, 2018 年的养殖产量约为 5.6 万 t^[1]。中国明对虾在养殖过程中对蛋白质的需求量高, 一旦饲料品质或者管理达不到标准, 个体间容易因饵料、空间等资源产生竞争, 影响生长速度和养殖存活率, 最终导致经济效益受损。已有研究表明, 个体间的竞争行为对动物的生产和福利性状有显著的影响, 且可遗传^[2-4]。竞争行为的产生是一个复杂的过程, 不仅与环境有关还受基因的调控^[5-6]。钙调神经磷酸酶(calcineurin, CN)是一种高度保守的 Ca^{2+} /钙调蛋白(calmodulin, CaM)依赖性的丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶^[7-8], 由

催化亚基 CN-A 和调节亚基 CN-B 组合而成^[9], 通过调控中枢神经系统, 在动物应激、运动行为中发挥重要作用^[10-13]。有关 CN 基因在水产动物中的报道很少, 目前主要在中国明对虾、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)、牡蛎(*Ostrea gigas* tnanb)、鲎(*Tachyples tridentatus*)中有相关的报道^[6,14-15]。孙犁等^[6]克隆了中国明对虾的 CN-B 基因(*FcCN-B*)序列, 研究表明该基因在不同竞争强度的家系神经组织间存在显著性差异表达。

为了改良对虾的竞争性能, 在对虾选择育种研究中, 一般通过多家系多分组实验结合扩展动物模型, 以间接遗传效应作为评价个体竞争能力

收稿日期: 2020-04-28; **修订日期:** 2020-05-27.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31572616); 联合基金项目(U1706203); 现代农业产业技术体系专项资金项目(CARS-48); 国家重点研发计划项目(2018YFD0901301); 山东省农业良种工程项目(2019LZGC014); 国家自然科学基金青年科学基金项目(31602151).

作者简介: 李波波(1993-), 男, 硕士研究生, 从事对虾遗传育种研究. E-mail: 449122319@qq.com

通信作者: 栾生, 博士, 研究员, 从事水产动物遗传育种研究. E-mail: luansheng@ysfri.ac.cn

强弱的重要参数^[4,16]。然而,在中国明对虾育种方案中,从隔离防疫的角度考虑,参与竞争能力测试的个体,通常不会作为候选亲本参与构建下一世代家系。当前主要采用同胞测试方法,通过家系间选择来改良对虾的竞争性能,因此仅能利用一半的加性遗传方差,选择的效率低。基因表达量可作为分子表型,用作评价个体竞争能力强弱的一个间接参数^[17],对未参与竞争能力测试的候选亲本进行选择,以提高选择的准确性。因此,评估与重要经济性状相关基因的表达量在育种群体中的遗传变异水平,是一项十分重要的工作^[18]。当前,在大西洋鲑(*Salmo salar*)^[18]、大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)^[19]、鲍(abalone)^[20]和文蛤(*Meretrix petechialis*)^[21]等水产动物中,分析了细菌病抗性相关基因表达量的遗传力。大部分水产动物基因表达量的遗传力估计值范围 0.01~0.90^[19],表明以性状相关基因表达量为参数进行多代选择可能会获得较大的遗传增益。有关中国明对虾竞争相关基因表达量的遗传参数估计研究尚未见报道。

在前期针对 *FcCN-B* 基因的研究中^[6],仅对 6 个家系共计 30 尾虾在不同组织中的表达情况进行了分析。由于样本量相对较小,无法准确评估 *FcCN-B* 基因表达量在育种群体中的遗传变异水平。为了进一步探究该基因在更大规模家系中的遗传变异情况,本研究从中国明对虾 G13 世代育种核心群中选择 32 个家系,共计 640 尾个体,利用 Real-time PCR 技术分析 *FcCN-B* 基因在不同家系及个体神经组织中的表达情况。采用个体动物模型结合系谱信息估计 *FcCN-B* 基因表达量的遗传参数。研究结果为解析中国明对虾竞争行为的分子机理、改良其竞争性提供了重要的参考数据。

1 材料与方法

1.1 实验用虾

本实验在农业农村部海水养殖遗传育种中心(青岛黄海水产研究所鳌山卫育种基地)进行。实验材料来自 2018 年构建的 G13 代育种核心群,从中随机选取 32 个家系,每个家系随机选取 20 尾对虾,共计 640 尾,放入预先准备的 20 个网箱中,

每个网箱包含 32 个家系的 32 尾虾,用于后续的 *FcCN-B* 基因表达分析。

1.2 样品采集

每个网箱中的对虾先暂养 2~3 d,取样前饥饿 48 h,使其肠道排空。取样时按顺序每隔 15 min 依次在每个网箱中投入少量的颗粒饲料,制造一个竞争的环境,15 min 后迅速的取每尾虾的神经节放入提前准备好的 RNA Keeper Tissue Stabilizer (Vazyme)中并放于-80 °C 冰箱中,用于后续的实时荧光定量表达分析。

1.3 RNA 的提取及反转录

使用 TRIZOL 法,按照 RNA isolater 试剂(Vazyme)说明书提取中国明对虾样品的总 RNA。采用 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性,使用 NanoDrop 2000UV/Vis 分光光度计(Thermo Fisher Scientific)检测 RNA 的浓度和纯度;使用试剂盒 HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)(Vazyme)中的 4×gDNA wiper Mix,按照说明书,彻底除去总 RNA 中掺杂的基因组 DNA,利用 5×HiScript III qRT SuperMix 合成相应的 cDNA。

1.4 *FcCN-B* 基因的定量表达分析

在孙犁等^[6]的研究中,通过建立食物受限的竞争环境,激发与抢食能力等竞争行为相关基因的表达,已初步证明了 *FcCN-B* 基因可能与对虾的竞争行为相关。在此基础上,本研究继续调查 *FcCN-B* 基因在规模化家系水平上的定量表达情况。内参基因为 18S,其序列为 18s-F 5'-TATACGCTAGTGGA GCTGGAA-3'和 18s-R 5'-GGGGAGGTAGTGACG AAAAAT-3'; *FcCN-B* 基因引物序列为 (q)-F 5'-TGCTGATGAGATTTCGCCGACTTG-3' 和 (q)-R 5'-TCGCTGAACCTAACGGATTCTGCTG-3'^[6]。按照 ChamQTM Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒(Vazyme)的说明书进行 Real-time PCR,扩增体系(总体积为 10 μL): 上下引物各 0.2 μL, SYBR Master Mix 主混合物 5 μL,模板 cDNA 1 μL,灭菌超纯水 3.6 μL,每个反应设置 3 个平行对照。反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 55 °C 退火 34 s, 40 个循环; 融解曲线 95 °C 15 s, 55 °C 1 min, 95 °C 15 s, 获得每个样品的表达量。

1.5 统计分析

采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[22] 计算 *FcCN-B* 基因的相对表达量。因为在取样和提取 RNA 的过程中由于操作问题导致部分样品无效, 最后共保留 599 尾个体的有效 RNA 定量数据。利用 Excel 软件统计 *FcCN-B* 基因表达量的描述性统计参数(表 1)。使用 SPSS 23.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA), 利用 LSD 法进行家系间 *FcCN-B* 基因表达量的多重比较, $P<0.05$ 表示差异的统计检验达到显著水平, $P<0.01$ 表示差异的统计检验达到极显著水平。

1.6 遗传参数估计

采用 ASReml4^[23] 软件, 通过个体动物模型估计 *FcCN-B* 基因表达量的方差组分。*FcCN-B* 基因表达量的遗传参数估计模型如下:

$$y_i = \mu + a_i + e_i \tag{1}$$

$$y_{ik} = \mu + a_i + t_k + e_{ik} \tag{2}$$

模型(1)仅包含加性遗传效应, 模型(2)包含加性遗传效应和网箱效应。式中 y_i 和 y_{ik} 是第 i 尾虾 *FcCN-B* 基因的表达式; μ 是总体均值; a_i 是第 i 尾虾的加性遗传效应值, $a \sim (0, A\sigma_a^2)$, A 是测试个体所能追溯到的所有祖先的加性遗传相关矩阵, σ_a^2 是 DGE 的加性遗传方差; t_k 是第 k 个测试网箱的随机效应, $t_k \sim (0, I\sigma_t^2)$, I 是单位矩阵, σ_t^2 是网箱效应的方差; e_i 和 e_{ik} 是第 i 尾虾的随机残差, $e \sim (0, I\sigma_e^2)$, σ_e^2 是残差的方差。由于不同性别间 *FcCN-B* 表达量无差异, 因此未将其作为固定效应纳入模型中进行分析。由于收获体重与 *FcCN-B*

基因表达量之间无相关性, 因此未将其作为协变量纳入模型中进行分析。

似然比检验(likelihood ratio tests, LRT)是用来评估哪个模型能更好地拟合数据, 检验模型中考虑网箱效应对遗传参数估计值的影响。LRT 检验公式如下:

$$LRT = 2(\ln L_2 - \ln L_1)$$

式中, $\ln L_1$ 是简单模型的对数似然值, $\ln L_2$ 是复杂模型的对数似然值。LRT 近似地符合卡方分布, 其中, 自由度等于在复杂模型中增加的随机效应的个数。

表型方差用 σ_p^2 表示, 公式如下:

$$\sigma_p^2 = \sigma_a^2 + \sigma_t^2 + \sigma_e^2$$

遗传力用 h^2 表示, 公式如下:

$$h^2 = \sigma_a^2 / \sigma_p^2$$

2 结果与分析

2.1 竞争环境下 *FcCN-B* 基因表达量的描述性统计参数

竞争环境下 *FcCN-B* 基因在个体和家系水平上的表达量描述性统计分析见表 1。结果显示, 在个体水平和家系水平上 *FcCN-B* 基因的表达量均值分别为 8.25 和 8.28; 在个体和家系水平上, *FcCN-B* 基因表达量的变异系数分别为 66.55% 和 19.31%, 前者显著高于后者(66.55%>19.31%)。在个体水平上, 表达量最大值是最小值的 44.48 倍; 而在家系水平上, 表达量最大值仅为最小值的 2.20 倍。

表 1 中国明对虾个体 *FcCN-B* 基因表达量的描述性统计分析表

Tab. 1 Descriptive statistical analysis of individual *FcCN-B* gene expression in *Fenneropenaeus chinensis*

世代 generation	家系 family	类型 type	样本量 number	均值 mean	最小值 min	最大值 max	标准差 SD	变异系数/% CV
G13	32	个体 individual	599	8.25	1.00	44.48	5.49	66.55
		家系 family	32	8.28	5.79	12.71	1.60	19.31

2.2 *FcCN-B* 基因在个体水平上的表达差异分析

基于 599 尾中国对虾的 *FcCN-B* 基因表达量数据, 绘制箱形图(图 1)。结果表明, 在个体水平上表达量明显呈偏态分布, 多数个体的表达量集中在(5.6~7.9)的范围内; 极差为 43.48, 四分位数

间距为 4.45, 中位数和均值分别为 6.95 和 8.25, 表明存在极大值个体; T 检验达到极显著水平($P<0.01$)。

2.3 *FcCN-B* 基因在家系水平上的表达差异分析

利用单因素方差分析(ANOVA)方法分析神经

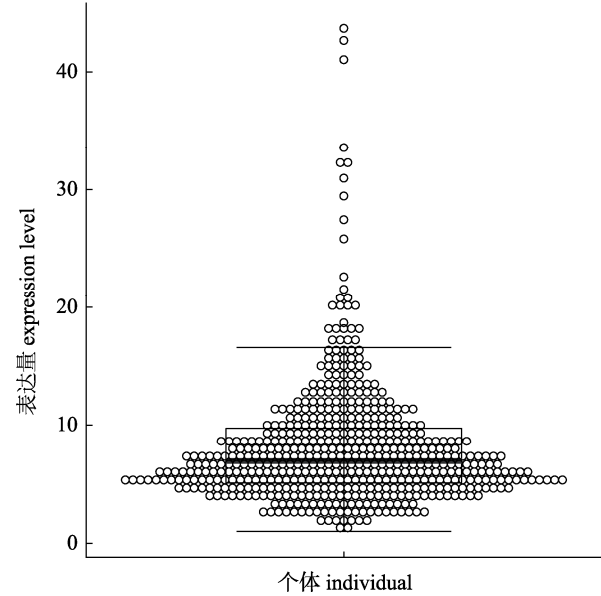


图 1 中国明对虾个体 *FcCN-B* 基因表达量的箱形图
Fig. 1 Boxplot of individual *FcCN-B* gene expression level in *Fenneropenaeus chinensis*

节组织中 *FcCN-B* 基因表达量在不同家系间的差异程度, 结果见表 2。*FcCN-B* 基因表达量在不同家系间存在较大差异, *F* 检验达到显著水平 ($P<0.05$)。图 2 为 *FcCN-B* 基因表达量在不同家系间的 LSD 多重比较, 结果显示不同家系间 *FcCN-B* 基因表达量差异达到显著水平 ($P<0.05$)。

2.4 方差组分和遗传参数

中国明对虾 *FcCN-B* 基因表达量的遗传参数估计值见表 3。模型(1)获得 *FcCN-B* 基因表达量的遗传力估计值(0.74 ± 0.13)较模型(2) (0.60 ± 0.13)大, 均属高遗传力水平。似然比检验结果表明, 需要将网箱效应包含在模型中($LRT=6.70$, $P<0.01$), 因此基于模型(2)获得的估计结果更为准确。其中网箱效应对表型方差的贡献为 12.2%, 表明不同的网箱环境对 *FcCN-B* 基因的表达产生了一定程度的影响。

表 2 中国明对虾家系/个体 *FcCN-B* 基因表达量的方差分析

Tab. 2 ANOVA analysis of variance of <i>FcCN-B</i> gene expression level for families and individuals in <i>Fenneropenaeus chinensis</i>						
变异来源 variation source	平方和 sum of squares	自由度 degree of freedom	均方 mean square	<i>F</i>	<i>P</i>	
家系间 between families	1492.120	31	48.133	1.646	0.016	
家系内 within families	16577.624	567	29.237			
总和 total	18069.744	598				

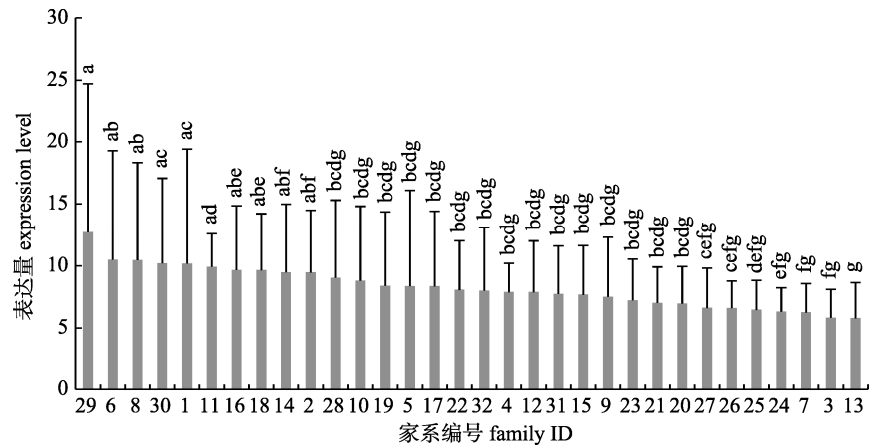


图 2 中国明对虾家系 *FcCN-B* 基因表达量均值的 LSD 多重比较
柱形图上不同字母表示不同家系间差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 2 LSD multiple comparison of the average expression level of *FcCN-B* gene for families of *Fenneropenaeus chinensis*
Different letters on the column indicate significant differences ($P<0.05$).

表 3 中国明对虾 *FcCN-B* 基因表达量的遗传参数

Tab. 3 Genetic parameters of <i>FcCN-B</i> gene expression level in <i>Fenneropenaeus chinensis</i>						
模型 model	$\lg L$	σ_a^2	σ_t^2	σ_e^2	σ_p^2	h^2
(1)	-1366.85	34.01±9.12	—	12.17±4.81	46.18±4.93	0.74±0.13
(2)	-1338.29	27.96±8.10	5.68±2.37	12.87±4.30	46.51±4.66	0.60±0.13

3 讨论

CN 是激活钙调素/钙调素激活的唯一丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶,在动物应激和免疫反应中发挥重要作用^[10]。已有研究表明 CN 基因在哺乳动物的多种组织中均表达,在中枢神经系统中最为丰富^[24]。在中华绒螯蟹的研究中,神经节中 *EsCN-B* 基因的表达量显著高于 *EsCN-A*^[14];在中国明对虾神经节组织中, *FcCN-B* 基因的表达量最高^[6]。因此,本研究选择神经组织,开展后续的实时荧光定量表达分析。

本研究通过 Real-time PCR 获得竞争环境下 *FcCN-B* 基因在神经组织中的表达量。结果显示,不论是在个体水平还是家系水平上, *FcCN-B* 基因在神经组织中存在显著性差异表达。已有研究表明,钙/钙调蛋白依赖性丝氨酸蛋白激酶(CASK)基因结合钙调神经磷酸酶基因(CN)和 caskin 1 基因(CK)在果蝇的竞争行为中发挥重要的作用,并通过中枢神经调节果蝇的运动行为^[12,24-25]。在中华绒螯蟹的研究中发现, *EsCN-B* 在控制肌肉质量中具有潜在的作用^[14]。在中国明对虾的研究中, *FcCN-B* 基因在竞争行为中发挥一定的功能,在神经组织中存在显著性差异表达^[6],这与本研究结果一致。此外, CN 基因在应对环境胁迫的反应中起着关键作用,在盐度和 pH 胁迫下 *EsCN-B* 在肌肉、肝胰脏、神经节等组织中都显著上调^[14];通过进化分析表明中国明对虾与中华绒螯蟹的聚类关系最近,且 CN-B 蛋白在中国明对虾、中华绒螯蟹中具有所有特征保守的结构域^[6]。本研究中,在密度胁迫的竞争环境下 *FcCN-B* 基因在神经组织中均有表达,个体或家系间存在显著性差异,表明在神经组织中 *FcCN-B* 基因与 *EsCN-B* 基因可能发挥相似的功能。

在本研究中, *FcCN-B* 基因在个体水平上的表达存在较大差异(变异系数 66.55%),取样时的较低水温可能是一个重要的影响原因。本研究在取样时,水温已下降至 16℃左右。有研究表明,中国明对虾个体对温度的耐受能力存在差异^[26]。那些对温度敏感的个体,在受到外界刺激时可能表现出弱的竞争行为,相应的 *FcCN-B* 基因的表达

量也相对较低;相反,对温度不敏感的个体,在投喂少量饵料时,会表现出更强的竞争作用, *FcCN-B* 基因的表达量相对更高,这可能会增大个体间 *FcCN-B* 基因表达量的极差,导致变异系数较大。

已有研究表明,基因表达量的遗传变异是复杂性状遗传变异的基础,其分子表型方差又分为加性、非可加性和环境方差组分^[27-28]。遗传方差中,大部分为加性遗传变异,是高度可遗传的^[5,27]。近些年,针对水产动物核心育种群体的评估研究,也发现相关基因表达量具有较高的遗传变异水平^[18-20]。在大马哈鱼的研究中,注射弧菌疫苗免疫刺激 24 h 后,4 个细胞因子基因表达量的遗传力估计值范围 0.04~0.41^[18]。江凤娟对文蛤 5 个弧菌抗性相关基因表达量的分析发现,其遗传力估计值范围为 0.113~0.530^[21]。在对海龟热休克基因(*hsp60*、*hsp70* 和 *hsp90*)表达的研究中发现,在 29℃和 36℃处理条件下其表达量的遗传力估计值范围分别为 0.32~0.88 和 0.21~0.79,均表现为中高水平^[29]。本研究中利用系谱信息对来自 32 个家系的 599 尾个体的 *FcCN-B* 基因表达量进行了遗传力估计,获得的遗传力为 0.60±0.13,属于高遗传力水平,表明其在育种群体中有较为丰富的遗传变异,遗传改良的潜力较大。

综上所述,本研究通过 Real-time PCR 定量分析,发现 *FcCN-B* 基因表达量在家系水平上存在显著性差异;数量遗传学分析表明,该基因表达量在育种群体中具有高遗传变异。基于 *FcCN-B* 基因表达量对中国明对虾竞争性进行遗传改良具有可行性。但竞争行为的发生并不是由单基因决定的,而是一个复杂的多基因网络调控过程,因此需要进一步对调控网络上的关键基因进行深入解析。

参考文献:

- [1] Bureau of Fishery Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook 2019[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2019. [农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 2019 中国渔业统计年鉴[M]. 北京:中国农业出版社, 2019.]

- [2] Nielsen H M, Monsen B B, Ødegård J, et al. Direct and social genetic parameters for growth and fin damage traits in Atlantic cod (*Gadus morhua*)[J]. Genetics, Selection, Evolution, 2014, 46: 5.
- [3] Khaw H L, Ponzoni R W, Yee H Y, et al. Genetic and non-genetic indirect effects for harvest weight in the GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture, 2016, 450: 154-161.
- [4] Luan S, Luo K, Chai Z, et al. An analysis of indirect genetic effects on adult body weight of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low rearing density[J]. Genetics Selection Evolution, 2015, 47: 95.
- [5] Leder E H, McCairns R J S, Leinonen T, et al. The evolution and adaptive potential of transcriptional variation in sticklebacks—signatures of selection and widespread heritability[J]. Molecular Biology and Evolution, 2015, 32(3): 674-689.
- [6] Sun L, Lu X, Kong J, et al. Identification and characterization of the calcineurin B in *Fenneropenaeus chinensis*: Its implications in competitive ability[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(1): 11-20. [孙犁, 卢霞, 孔杰, 等. 中国明对虾 calcineurin B 基因的克隆及其在竞争行为中作用的初探[J]. 水产学报, 2020, 44(1): 11-20.]
- [7] Warren W D, Phillips A M, Howells A J. *Drosophila melanogaster* contains both X-linked and autosomal homologues of the gene encoding calcineurin B[J]. Gene, 1996, 177(1-2): 149-153.
- [8] Wu M L, Han Y H, Cao X D, et al. Cloning and expression of *Schistosoma japonicum* calcineurin B gene and assessment of immune protection of the expressed protein[J]. Chinese Veterinary Science, 2014, 44(5): 458-462. [伍妙梨, 韩艳辉, 曹晓丹 等. 日本血吸虫钙调神经磷酸酶 B 基因的克隆表达及表达产物的免疫保护效果的评估[J]. 中国兽医科学, 2014, 44(5): 458-462.]
- [9] Giri P R, Marietta C A, Higuchi S, et al. Molecular and phylogenetic analysis of calmodulin-dependent protein phosphatase (calcineurin) catalytic subunit genes[J]. DNA and Cell Biology, 1992, 11(5): 415-424.
- [10] Li S, Jia Z R, Chen X L, et al. Identification and characterization of the cDNAs encoding the two subunits of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) calcineurin: Their implications in stress and immune response[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 43(1): 91-102.
- [11] Schulz R A, Yutzey K E. Calcineurin signaling and NFAT activation in cardiovascular and skeletal muscle development[J]. Developmental Biology, 2004, 266(1): 1-16.
- [12] Slawson J B, Kuklin E A, Ejima A, et al. Central regulation of locomotor behavior of *Drosophila melanogaster* depends on a CASK isoform containing CaMK-like and L27 domains[J]. Genetics, 2011, 187(1): 171-184.
- [13] Li Y H, Ouyang J P, Wei J B. Role of calcineurin in cardiovascular system[J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2003, 11(5): 477-480. [李映红, 欧阳静萍, 魏劲波. 钙调神经磷酸酶在心血管系统中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2003, 11(5): 477-480.]
- [14] Li S, Jia Z R, Li X J, et al. Calmodulin is a stress and immune response gene in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 40(1): 120-128.
- [15] Li C Z, Liang J, Ma Z J, et al. Calcineurin mediates the immune response of hemocytes through NF- κ B signaling pathway in pearl oyster (*Pinctada fucata*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 28(2): 253-260.
- [16] Zhong W P, Luo K, Meng X H, et al. An analysis of the indirect genetic effect on the body weight of *Fenneropenaeus chinensis* under restrictive feeding conditions[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(6): 1245-1251. [仲伟鹏, 罗坤, 孟宪红, 等. 限制投喂环境下中国对虾体重的间接遗传效应分析[J]. 中国水产科学, 2018, 25(6): 1245-1251.]
- [17] Robinson N, Goddard M, Hayes B. Use of gene expression data for predicting continuous phenotypes for animal production and breeding[J]. Animal, 2008, 2(10): 1413-1420.
- [18] Robinson N, Hayes B. Modelling the use of gene expression profiles with selective breeding for improved disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Aquaculture, 2008, 285(1-4): 38-46.
- [19] Aykanat T, Heath J W, Dixon B, et al. Additive, non-additive and maternal effects of cytokine transcription in response to immunostimulation with *Vibrio* vaccine in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)[J]. Immunogenetics, 2012, 64(9): 691-703.
- [20] Brokordt K B, González R C, Fariás W J, et al. Potential response to selection of HSP70 as a component of innate immunity in the abalone *Haliotis rufescens*[J]. PLoS ONE, 2015, 10(11): e0141959.
- [21] Jiang F J. The identification of *Vibrio* resistance related gene expression traits and their heritability estimation in the clam *Meretrix petechialis*[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2018. [江凤娟. 文蛤弧菌抗性相关基因表达性状的分析及其遗传力估计[D]. 北京: 中国科学院大学, 2018.]
- [22] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [23] Gilmour A R, Gogel B J, Cullis B R, et al. ASReml User

- Guide. Release 4.1 Structural Specification[M]. Hemel Hempstead: VSN International Ltd., 2014.
- [24] Takaishi T, Saito N, Kuno T, et al. Differential distribution of the mRNA encoding two isoforms of the catalytic subunit of calcineurin in the rat brain[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1991, 174(1): 393-398.
- [25] Leandro M J, Cambridge G, Edwards J C, et al. B-cell depletion in the treatment of patients with systemic lupus erythematosus: A longitudinal analysis of 24 patients[J]. Rheumatology, 2005, 44(12): 1542-1545.
- [26] Wang M Z, Meng X H, Kong J, et al. Evaluation of genetic parameters for growth and cold tolerance traits in *Fenneropenaeus chinensis* under low-temperature stress[J]. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(3): 96-102. [王明珠, 孟宪红, 孔杰, 等. 低温胁迫条件下中国明对虾生长性状和耐低温性状的遗传参数评估[J]. 渔业科学进展, 2018, 39(3): 96-102.]
- [27] Powell J E, Henders A K, McRae A F, et al. Congruence of additive and non-additive effects on gene expression estimated from pedigree and SNP data[J]. PLoS Genetics, 2013, 9(5): e1003502.
- [28] Yang S J. Genome-wide eQTLs and heritability for gene expression traits in unrelated HapMap individuals[D]. Shanghai: Fudan University, 2012. [杨胜杰. 非亲缘 HapMap 个体中全基因组 eQTL 和基因表达水平的遗传力分析[D]. 上海: 复旦大学, 2012.]
- [29] Tedeschi J N, Kennington W J, Tomkins J L, et al. Heritable variation in heat shock gene expression: A potential mechanism for adaptation to thermal stress in embryos of sea turtles[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2016, 283(1822): 20152320.

An analysis of genetic variation in calcineurin B gene expression in *Fenneropenaeus chinensis*

LI Bobo^{1,2}, KONG Jie^{2,3}, LU Xia^{2,3}, SUN Li^{1,2}, SUI Juan^{2,3}, LIU Mianyu^{2,3}, LUO Kun^{2,3}, MENG Xianhong^{2,3}, CHEN Baolong^{2,3}, CAO Baoxiang^{2,3}, LIU Ning^{2,3}, LUAN Sheng^{2,3}

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China

Abstract: This study aimed to evaluate the effect of genetic variation on expression of the calcineurin B gene (*FcCN-B*) in a breeding population of *Fenneropenaeus chinensis*. Thirty-two full-sib families of the G13 generation were randomly selected in 2018, and one individual from each family was randomly selected and rehomed to new cages (each cage contained 32 shrimps). The amount of feed was limited, and real-time PCR was used to detect the expression of the *FcCN-B* gene in the ganglion tissue of each shrimp. The results showed that the expression of the *FcCN-B* gene at the individual level had a positive skew distribution. The higher value of the mean (8.25) compared to the median (6.95) indicates the presence of individuals with extremely high expression. The maximum expression of individuals was 44.48 times the minimum expression of individuals, and the range was 43.48. The variation coefficient of *FcCN-B* expression at the individual level was 66.55%, whereas it was relatively small (19.31%) at the family level. The maximum expression was only 2.20 times the minimum expression at the family level. One-way analysis of variance showed that there were significant differences in the expression level of the *FcCN-B* gene between families ($P < 0.05$). Heritability for *FcCN-B* gene expression, estimated using the animal models and their pedigrees, was 0.60 ± 0.13 . This indicates that there was a high level of genetic variation in the nuclear breeding population, and great genetic gain may be obtained. The results provide reference data to investigate the molecular mechanism of the competitive behavior and improve competitive ability in *F. chinensis*.

Key words: *Fenneropenaeus chinensis*; calcineurin B subunit gene; gene expression; heritability; genetic variation

Corresponding author: LUAN Sheng. E-mail: luansheng@ysfri.ac.cn