



上海 KM 小鼠种子群体遗传状况分析

王 洪^{1,2}, 杜小燕¹, 徐 平³, 迟晓丽⁴, 李根平⁴, 岳秉飞², 陈振文¹

(1. 首都医科大学基础医学院, 北京 100069; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050;
3. 中科院上海生命科学研究院, 上海 201619; 4. 北京市实验动物管理办公室, 北京 100159)

【摘要】 目的 对国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心 KM 小鼠种子群体进行群体遗传质量分析与评价。**方法** 利用筛选出的 30 个微卫星位点设计引物, 对种群中随机抽取的 30 只 KM 小鼠样本进行 PCR 扩增, 扩增产物利用 STR 扫描技术进行测定, 用 Popgen1.32 软件对所得结果进行处理分析。**结果** KM 小鼠种子群体共得到 123 个等位基因型, 平均有效等位基因数为 2.3989, 平均杂合度为 0.5342, 平均多态性信息含量(PIC)为 0.4735。**结论** 上海分中心 KM 小鼠种子群体具有良好的遗传稳定性和多样性, 符合封闭群动物的群体遗传概貌特征。

【关键词】 微卫星 DNA; 群体遗传; 昆明小鼠

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 12-0027-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.012.006

Population genetic quality analysis of outbred KM mice from Shanghai Seed Center

WANG Hong^{1,2}, DU Xiao-yan¹, XU Ping³, CHI Xiao-li⁴, LI Gen-ping⁴, YUE Bing-fei², CHEN Zhen-wen¹

(1. School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050;

3. Shanghai Institutes for Biological Sciences of Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201619;

4. Beijing Administration Office of Laboratory Animals, Beijing 100159)

【Abstract】 Objective To analyze and evaluate the population genetic quality of outbred KM mice from National Rodent Seed Center (Shanghai). **Methods** A total of 30 outbred KM mice were randomly chosen. The genetic characteristics of the population were determined by PCR and STR scanning using 30 selected microsatellite loci. Popgen1.32 software was used to process the data. **Results** Thirty microsatellite loci shared 123 alleles in the KM mouse population. The average effective allele number and the average heterozygosity were 2.3989 and 0.5342, respectively. The average polymorphism information content (PIC) was 0.4735. **Conclusions** The outbred KM mouse population of Shanghai Seed Center has genetic stability and genetic diversity, and is satisfied with the genetic characteristics of closed colony laboratory animal.

【Key words】 Microsatellite DNA; Population genetics; KM Mice

昆明小鼠(KM)是1946年我国从印度 Haffkine 研究所将瑞士种小鼠引入云南昆明,1952年由昆明

[基金项目] 国家科技支撑计划课题《实验动物质量监测及规范管理体系建设与完善(编号:2013BAK11B03)》。

[作者简介] 王洪(1977-),女,副研究员。研究方向:分子遗传学。E-mail: littstar@163.com。

[通讯作者] 陈振文(1959-),男,教授,博士。E-mail: czwen@ccum.edu.cn; 岳秉飞(1960-),男,研究员,博士。E-mail: y6784@126.com; 李根平(1962-),男,研究员。E-mail: ligp@baola.org。

引入北京生物制品研究所,1954 年推广到全国各地。该小鼠特点是产仔率高、抗病力强、适应性强,常见的自发肿瘤为乳腺癌,发病率约 25%。KM 小鼠在我国广泛应用于教学、生殖生理、肿瘤、毒理、药理、免疫和微生物的研究以及药品和生物制品的生产和检定工作,是使用量最多的实验动物之一^[1]。但 50 多年来,人们对 KM 小鼠的遗传状况了解甚少,尤其是对国家啮齿类实验动物种子中心的封闭群动物的群体遗传结构尚不清楚,使动物保种和生产都处于盲目状态,给 KM 小鼠的种子资源安全和应用的可靠性带来隐患。本研究通过筛选优化出的 30 个富含多态性的微卫星位点,对来源于国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心 KM 小鼠进行群体遗传结构分析,从而阐明上海分中心 KM 小鼠的群体遗传质量状况,为科学保种和动物生产提供数据支撑,为建立封闭群小鼠的遗传检测方法和标准奠定基础。

1 材料和方法

1.1 样本

在国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心饲养的 SPF 级封闭群 KM 小鼠种群中避开同窝个体随机选取 30 只小鼠,分别取肾脏一个,放入无菌 EP 管中, -20℃ 冰冻保存备用。动物生产许可证号: SCXK(沪)2012-0002。动物使用许可证号: SYXK(京)2011-0008。

1.2 样本 DNA 的制备

取小鼠肾组织 100 mg,加入到含有蛋白酶 K 的抽提缓冲液中消化过夜,酚/氯仿法提取 DNA,经紫外分光光度计检测吸光度 A260/A280 值在 1.8 ~ 2.0 之间,样品合格。取适量稀释成 50 ng/μL ~ 100 ng/μL 作为 DNA 模版,4℃ 保存备用。

1.3 微卫星位点的选择

本研究所用 30 个微卫星位点从相关文献中选取^[2-4],位点的选择尽量均匀分布于小鼠的 1 ~ 20 号染色体上,且具有较高的多态性。引物委托英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。序列详见表 1。

1.4 试剂

Taq 酶、50 bpDNA marker、dNTP、琼脂糖均购自 Takara 公司;其余试剂均为国产。

1.5 主要仪器设备

日本 Biospec-mini 紫外分光光度计, Mettler GB303 电子天平, Bio-Rad MyCycler 型 PCR 仪, Bio-

Rad Model 3000Xi 型电泳仪, GelLogic 212PRO 紫外与可见光凝胶分析装置。

1.6 PCR 扩增

反应体系:总反应体系 20 μL,其中:10 × PCR buffer 2 μL,上下游引物(10 pmol/μL)各 1 μL,dNTP (100 μmol/L) 1.2 μL,镁离子(1.5 mmol/L) 1.5 μL,Taq 酶(2.5 U/μL) 0.2 μL,50 ng ~ 100 ng/μL 基因组 DNA 1 μL,纯水(ddH₂O) 12.1 μL。

PCR 反应程序:95℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s;退火温度(54 ~ 64)℃(表 1)30 s;72℃ 延伸 30 s;35 个循环;72℃ 继续延伸 8 min;扩增产物 4℃ 保存。

1.7 电泳结果及记录

2.5% 的琼脂糖凝胶,电压 150 V,时间 30 min。溴化乙啶(2 μg/mL)染色,紫外可见分析装置记录拍照。

1.8 STR 扫描

扩增产物应用 STR 扫描仪进行扫描,一次扫描可以同时扫描三个微卫星位点,三个位点分别用三种荧光 FAM、HEX、TAMRA 标记,这三个位点的同一个小鼠样品的 PCR 扩增产物按照 1:3:5 体积比混合后取 1 μL 上样,进行 STR 扫描。

由 Genemapper V4.0 软件读出 30 个样本在 30 个微卫星位点的扩增片段大小。每个位点的等位基因根据扩增片段大小从大到小顺序排列记录为 a、b、c、d 等,每个样本的基因型即可记录为 aa、ab、ac 等形式。

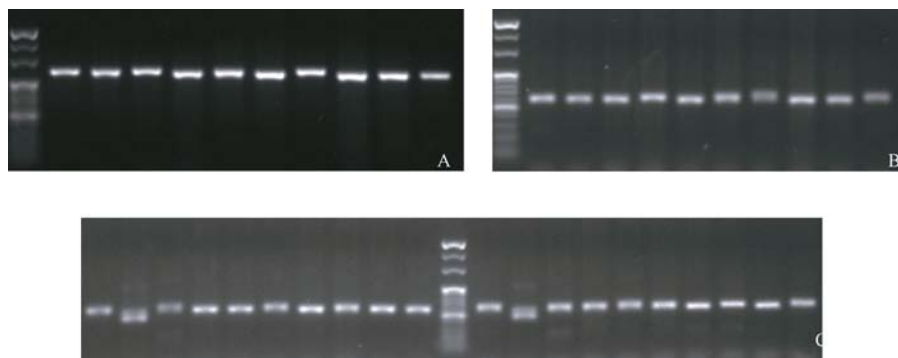
1.9 数据处理

群体内遗传变异采用杂合度和多态性信息含量 2 个指标进行评价。将所有样本的每个微卫星位点的基因型以 aa、ab、ac 等形式输入 Popgen1.32 软件。利用软件计算不同个体在各微卫星位点上的基因频率、平均有效等位基因数(N_e)、平均杂合度(H);利用 Littleprogram 0.6 计算各位点的多态性信息含量(PIC)。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

扩增结果以 D14Mit3 和 D15Mit5 两个位点为例,仔细观察,肉眼可见条带细微差别,条带的不均一性提示可选用作 STR 扫描,有利于筛选多态性位点。如图 1 所显示的是位点 D14Mit3 和 D15Mit5 在不同个体小鼠样本的 PCR 结果电泳图。其中图 1A 是 D14Mit3 位点在 1 ~ 10 号小鼠样本的 PCR 结果电泳



A 图为 D14Mit3 位点在 1-10 号小鼠中的结果; B 图为 D11Mit4 位点在 1-10 号小鼠中的结果;

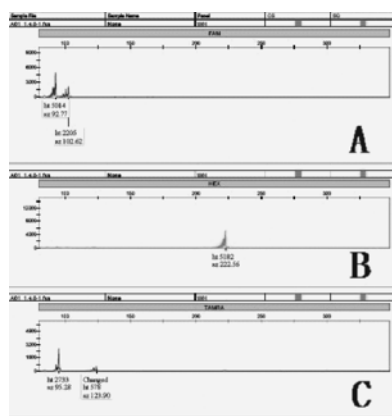
C 图为 D15Mit5 位点在 11-30 号小鼠中的结果。

图 1 位点 D14Mit3, D11Mit4 和 D15Mit5 的 PCR 结果电泳图 (2.5% 琼脂糖, 50 bp 分度 marker)。

Note. A and B are results in mouse number 1-10 in loci D14Mit3 and D15Mit5,

respectively. C is results in mouse number 11-30 in locus D15Mit5.

Fig. 1 Electrophoresis results of loci D14Mit3, D11Mit4 and D15Mit5 (2.5% agarose, 50 bp DNA marker).



A 图为 D1Mit365 位点。B 图为 D8Mit33 位点。

C 图为 D4Mit235 位点。纵坐标为波峰高度, 横坐标为扫描时间。

图 2 D1Mit365, D4Mit235, D8Mit33 3 个位点的 STR 扫描图

(A) locus D1Mit365 (B) locus D8Mit33 (C) locus D4Mit235.

Y-axis is peak height, X-axis is scan time.

Fig. 2 The waveforms of 3 loci including locus D8Mit33, D1Mit365 and D4Mit235 in STR scanning result.

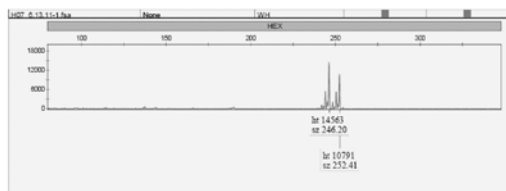


图 3 D11Mit4 位点的 STR 扫描图。

纵坐标为波峰高度, 横坐标为扫描时间

Fig. 3 The waveforms of D11Mit4 in STR scanning result.

Y-axis is peak height, X-axis is scan time

图, 图 1B 所显示的是 D15Mit5 位点的 1~10 号小鼠样本的 PCR 结果电泳图, 图 1C 所显示的是 D15Mit5 位点的 11~30 号小鼠样本的 PCR 结果电泳图。

2.2 STR 扫描结果

经过琼脂糖凝胶电泳初筛, 将肉眼可见差别的位点进行 STR 扫描, 得到多态性较高的 STR 扫描图谱。30 个微卫星位点引物对 30 只 KM 小鼠样本的 PCR 扩增产物, 经 STR 扫描, 结果都出现了典型的波形。以 D1Mit365, D4Mit235, D8Mit33 和 D11Mit4 为例, 分别示意不同峰型及判读方法。STR 扫描可以精确检测到 DNA 片段的具体长度, 区分相差仅为 1 bp 的 DNA 片段。图 2 所显示的是第 1 号小鼠样本, 在 D1Mit365、D4Mit235、D8Mit33 三个微卫星位点的扩增产物, 经 STR 扫描后的图形。其中 1 号样本在 D8Mit33 位点 (图 2-B) 只有一个独立的单峰, 说明样本在该位点为纯合子, 1 号小鼠样本, 在 D1Mit365 (图 2-A)、D4Mit235 (图 2-C) 和 D11Mit4 (图 3) 位点有两个独立的尖峰, 说明是杂合子。

2.3 群体遗传结构分析

封闭群 KM 小鼠在 30 个微卫星位点中, 各位点的等位基因数介于 2~9 个之间, 各位点的等位基因数见表 1。该小鼠群体平均观测等位基因数为 4.1000, 平均有效等位基因数为 2.3989, 平均杂合度为 0.5342, 平均多态性信息含量为 0.4735。高度多态性位点 (PIC > 0.5) 有 15 个, 中度多态性位点 (PIC < 0.5) 有 13 个, 低度多态性位点 (PIC < 0.25) 有 2 个 (见表 2)。

2.4 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

利用 Popgene 1.32, 计算 KM 小鼠 30 个微卫星位点的 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验的 *P* 值。结果有 13 个位点显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 17 个位点群体处于 Hardy-Weinberg 平衡, 各位点 *P* 值见表 2。

表 1 30 个微卫星座位的扩增条件、等位基因数及等位基因分布

Tab. 1 The optimal conditions of amplification, number of alleles and alleles range of 30 microsatellites loci

位点 Locus	引物序列(5' - 3') Primer sequence(5' - 3')	染色体 Chromosome	镁离子浓度 MgCl ₂ (mmol/L)	退火温度 Temp (°C)	等位基因数 Number of alleles	等位基因范围 Allele range
D1Mit365	ATCACCTGCAATAGTACCCCC TTAATCAGTCATCATAGGCTTTTCC	1	1.5	54	4	91 - 105
D2Mit15	ATGCCTTAGAAGAATTTGTCTCC CTTGAAAAACACATCAAAATCTGC	2	1.5	54	4	154 - 170
D3Mit29	GATGAGAGATTCTGATGTGGAGG CCAGCCTCAGTATCTCAAAACC	3	1.5	64	2	143 - 145
D4Mit235	AGGCCAAAGGTTGGATTTCT GAGACTTGAAATTGAAGCATTTAGG	4	1.5	55	3	95 - 123
D5Mit48	GACTATCATCCAAGCCAAGACC AAAAGACACTTTCCTGCATAGC	5	1.5	60	4	198 - 210
D6Mit102	CCATGTGGATATCTTCCCTTG GTATACCCAGTTGTAAATCTTGTGTG	6	1.5	54	6	137 - 177
D6Mit8	TGCACAGCAGCTCATTCTCT GGAAGGAAGGAGTGGGGTAG	6	1.5	60	5	175 - 187
D6Mit15	CACTGACCCTAGCACAGCAG TCCTGGCTTCCACAGGTA	6	1.5	60	4	195 - 255
D7Mit281	TTCTCTACCTCCTGAGCCA GCCACAAGGAAGACACCATT	7	1.5	60	2	110 - 136
D7Mit12	GCTGGGTTTATTTCATTGCAA TCCAGCTCATGGGTAGAAGA	7	1.5	58	5	201 - 235
D8Mit33	TTTGAGCAAAGGACTTGCCT TTATTCTGCCTCAACACCACC	8	1.5	60	3	222 - 226
D8Mit14	TTTTCACTCACGTGTGCG GTCTCTCCTTCCTGGGGCTG	8	1.5	63	2	131 - 139
D9Mit23	AAGAAGTTTCCATGACATCATGAA AGAAGAAAATTCTTGACAGCTCTG	9	1.5	65	4	202 - 208
D9Mit21	CAGTCCCTGGTTAATAACAACAAC TATAGTCCATGTGCGCAGAGGAGT	9	1.5	59	6	194 - 218
D10Mit12	ATGTCCAAAACACCAGCCAG GGAAGTGATGGAGCTCTGTT	10	1.5	54	2	216 - 238
D11Mit4	CAGTGGGTCATCAGTACAGCA AAGCCAGCCAGTCTTCATA	11	1.5	54	4	247 - 297
D12Mit7	CCGGGGATCTAAAACTACAT TCTAATCTCAGCCCAATGGT	12	1.5	60	2	106 - 122
D12Nds11	CATTTGAGGACAGTCAAGATC GGAACCTTTCATGCAGTACTAG	12	1.5	54	2	175 - 180
D13Mit3	TCAGGCTCATCCCAGATACC TTTTGCAGAGAACACACACC	13	1.5	60	5	173 - 199
D14Mit3	GCAATTACACCTCCTCGGAG CACAAGGGCATATGGTACCC	14	1.5	54	4	227 - 239
D15Mit5	CTTCCTAATTCCTGTCAAGCAAAT GTTTCAATTGGTCAATGGAACTTA	15	1.5	54	4	91 - 125
D15Mit15	AGCATACACTCTCTTGTCTGCT AATAAATACCAGAGAAGCACCGTG	15	1.5	60	4	144 - 158
D16Mit9	TCTTGCTCTGCTATCAACTACAGG CCTCCTTGCCAGCTAAAC	16	1.5	55	2	124 - 132
D17Mit11	TGAATTTATGAGGGGGGTCA TGTCCCATATCTCTTTATACACA	17	1.5	54	8	145 - 173
D17Nds3	TTCTGTGGCGGCCTTATCAG AGACAATGGGTAACAGAGGCA	17	1.5	58	9	119 - 135
D18Mit19	ATTGGGTGTTCAAGTGCAG ATGCACAATAGCTCATAGCTTCT	18	1.5	55	4	130 - 158
D18Mit9	AGAGGCATTGCACACACAAG GCCCTTGGAGAGTTGGT	18	1.5	60	6	148 - 174
D19Mit16	TCTTAGGTAATCTCCCTTAGGGG TGGTAAATGTAAACTGAAGCATG	19	1.5	54	2	113 - 133
D19Mit3	CTTCCCCTACTGCACTGCTC TTGCATAGTTGGCCAAAGTG	19	1.5	60	3	198 - 216
DXMit16	CTGCAATGCCTGCTGTTTTA CCGGAGTACAAAGGGAGTCA	20	1.5	58	8	84 - 112

表 2 封闭群 KM 小鼠在 30 个微卫星位点上的基因频率、平均杂合度、多态性信息含量
Tab. 2 Allele frequency, average heterozygosity and polymorphism information content (PIC) of 30 STR loci in KM mice

微卫星 位点 (Loci)	等位 基因数 (Na)	有效等位 基因数 (Ne)	观测 杂合度 (Obs_Het)	期望 杂合度 (Exp_Het)	平均 杂合度 (Ave_Het)	香隆指数 Shannon's Information index	多态性 信息含量 (PIC)	多态 程度	Hardy-Weinberg 遗传平衡 P 值
D1Mit365	4.0000	2.7565	0.8333	0.6480	0.6372	1.0968	0.5633	高	P < 0.01
D2Mit15	4.0000	2.2843	0.5333	0.5718	0.5622	0.9820	0.4860	中	P > 0.05
D3Mit29	2.0000	1.4706	0.0000	0.3254	0.3200	0.5004	0.2688	中	P < 0.01
D4Mit235	3.0000	1.2237	0.0667	0.1859	0.1828	0.3701	0.1711	低	P < 0.01
D5Mit48	4.0000	2.0454	0.6538	0.5211	0.5111	0.8978	0.4413	中	P < 0.01
D6Mit102	6.0000	2.6012	0.3333	0.6260	0.6156	1.1898	0.5569	高	P < 0.01
D6Mit8	5.0000	3.2143	0.7000	0.7006	0.6889	1.2797	0.6317	高	P > 0.05
D6Mit15	4.0000	1.9882	0.1379	0.5057	0.4970	0.9074	0.4500	中	P < 0.01
D7Mit281	2.0000	1.8349	0.3667	0.4627	0.4550	0.6474	0.3515	中	P > 0.05
D7Mit12	5.0000	2.4097	0.5517	0.5953	0.5850	1.1690	0.5468	高	P < 0.01
D8Mit33	3.0000	1.4622	0.2333	0.3215	0.3161	0.6027	0.2933	中	P > 0.05
D8Mit14	2.0000	1.9802	0.5667	0.5034	0.4950	0.6881	0.3725	中	P > 0.05
D9Mit23	4.0000	2.4965	0.4333	0.5944	0.5994	1.0523	0.5253	高	P < 0.01
D9Mit21	6.0000	2.4064	0.5333	0.6096	0.5844	1.2464	0.5568	高	P > 0.05
D10Mit12	2.0000	1.4274	0.3000	0.3045	0.2994	0.4764	0.2546	中	P > 0.05
D11Mit4	4.0000	3.0664	0.6333	0.6853	0.6739	1.1596	0.6044	高	P > 0.05
D12Mit7	2.0000	1.8672	0.4667	0.4723	0.4644	0.6572	0.3566	中	P > 0.05
D12Nds11	2.0000	1.2195	0.1333	0.1831	0.1800	0.3251	0.1638	低	P > 0.05
D13Mit3	5.0000	3.6217	0.9667	0.7362	0.7239	1.3950	0.6766	高	P < 0.01
D14Mit3	4.0000	2.4896	0.2667	0.6085	0.5983	1.0384	0.5171	高	P < 0.01
D15Mit5	4.0000	1.9587	0.5000	0.4977	0.4894	0.8800	0.4302	中	P > 0.05
D15Mit15	4.0000	3.0252	0.7333	0.6808	0.6694	1.2349	0.6187	高	P > 0.05
D16Mit9	2.0000	1.9912	0.4667	0.5062	0.4978	0.6909	0.3739	中	P > 0.05
D17Mit11	8.0000	3.6511	1.0000	0.7384	0.7261	1.5590	0.6842	高	P < 0.01
D17Nds3	9.0000	4.0541	0.4000	0.7661	0.7533	1.6877	0.7188	高	P < 0.01
D18Mit19	4.0000	2.9126	0.7667	0.6678	0.6567	1.2004	0.6003	高	P > 0.05
D18Mit9	6.0000	2.4931	0.6333	0.6090	0.5989	1.1138	0.5221	高	P > 0.05
D19Mit16	2.0000	1.4706	0.2667	0.3254	0.3200	0.5004	0.2688	中	P > 0.05
D19Mit3	3.0000	2.2699	0.4000	0.5689	0.5594	0.8913	0.4610	中	P > 0.05
DXMit16	8.0000	4.2755	0.5667	0.7791	0.7661	1.7077	0.7388	高	P < 0.01
均值	4.1000	2.3989	0.4815	0.5434	0.5342	0.9716	0.4735	中	-

3 讨论

目前国内啮齿类实验动物质量标准中推荐的遗传检测方法为生化标记检测法,且仅限于近交系大小鼠的遗传质量监测。而封闭群实验动物的遗传质量控制虽然有标准,但主要是对其引种和繁殖方式进行了限定,尚未建立统一的遗传检测方法。封闭群小鼠是应用最为广泛和使用数量最多的实验动物之一,国家啮齿类实验动物种子中心负责对国内实验动物生产单位提供种子动物,因此其种群的遗传质量将直接关系到我国实验动物的质量,关系到医学研究和药物评价中动物实验结果的准确性和稳定性。本研究通过优选小鼠微卫星位点,建立了针对封闭群小鼠的微卫星 DNA 遗传检测方法,并利用该方法对国家啮齿类实验动物种子中心的

KM 小鼠种子群体进行了遗传结构分析,这在国内尚属首次。本研究结果不但建立了能有效评估封闭群小鼠的遗传检测方法,明确了我国 KM 小鼠种子群体的遗传状况,而且为丰富和完善实验动物遗传质量检测国家标准提供了数据支撑。

对于群体遗传多样性的评价,其可靠性主要取决于所用样本对总体的代表性和遗传标记对基因组的代表性。关于样本量, Barker (1994) 提出每个品种至少分析 25 个样本^[5]。本研究以从国家啮齿类实验动物种子中心上海分中心多年饲养的封闭群 KM 小鼠种群中避开同窝个体随机选取 30 只小鼠为研究对象,因而取样方式和取样数量都使得所取样本能很好地代表总体。遗传标记对基因组的代表性取决于标记物的数量、在染色体上的分布和标记的多态性, Barker (1994) 建议,在群体遗传分析

时所用微卫星数目不应该低于 25 个,而且彼此不连锁,每个标记座位上至少有 4 个等位基因^[5]。本实验采用 30 个微卫星位点,分布于小鼠的 1~20 号染色体上,是以多态性丰富为原则从文献中优选,保证了标记物对基因组的代表性,因此研究结果具有可靠性。

有效等位基因数是指在理想群体中(所有等位基因频率相等),一个基因座上产生与实际群体中相同的纯合度所需的等位基因数。有效等位基因数是反映群体遗传变异大小的一个指标,其数值越接近所检测到的等位基因的绝对数,表明等位基因在群体中分布越均匀^[6],同时就越能较好的反映基因组的实际情况。本实验中,KM 小鼠群体平均观测等位基因数为 4.1,有效等位基因数平均数为 2.3989,群体的观测等位基因数与有效等位基因数有偏差,说明所检测的基因位点的等位基因在群体的基因组中分布还不够均匀。封闭群动物是经过人为定向培育,群体的遗传多样性和遗传平衡难免被打破,这可能是导致观测等位基因数与有效等位基因数有偏差的原因之一。群体杂合度表示在被检测的位点上群体中的杂合子频率,它是反映群体杂合程度的度量单位,群体平均杂合度的高低反映了群体遗传的一致性程度,群体杂合度越高,表明该群体的遗传变异越大,群体遗传多样越高^[6]。一个好的封闭群其平均杂合度在 0.5~0.7,本实验中 KM 小鼠群体平均杂合度为 0.5342,符合封闭群遗传结构特征。除上述参数外,多态信息含量(PIC)也是衡量群体遗传多样性的重要指标^[7]。一般情况下,多态信息含量能反映出某一个遗传标记位点所包含的或所能提供的遗传信息的容量。当 $PIC > 0.5$ 时,标记具有高度的可提供信息含量,可进行连锁分析,该位点为高度多态性位点;当 $0.25 < PIC < 0.5$ 时,基本能提供合理信息,该位点为中度多态性位点;当 $PIC < 0.25$ 时,提供信息性较差,一般不用此类标记进行连锁分析,为低度多态性位点。本实验中 KM 小鼠群体 PIC 为 0.4735,属于中度多态性位点,基本能提供合理信息。上述结果表明上海 KM 小鼠种子群体具有较强的遗传稳定性,较丰富的遗传多样性,是一个符合封闭群遗传特征的小鼠群体。

Hardy-Weinberg 平衡定律是指在一个群体无限大,个体间进行随机交配、没有突变、选择、遗传漂变的情况下,群体内一个位点上的基因型频率和基

因频率将世代保持不变,处于遗传平衡状态。Hardy-Weinberg 检测中,当 $P(HWE) > 0.05$,说明在该位点在群体中处于 Hardy-Weinberg 平衡;当 $0.01 < P(HWE) < 0.05$,说明显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡; $P(HWE) < 0.01$,说明非常显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡。本研究发现 KM 小鼠群中有 17 个位点均处于 Hardy-Weinberg 平衡状态,13 个位点非常显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡。这可能反映了封闭群动物在繁殖过程中未能完全实现随机交配,以致近交程度有所升高。多项研究表明,封闭群实验动物繁育受人因素为影响较大,在特定位点上偏离 Hardy-Weinberg 平衡似乎是其繁育过程中经常出现的一个问题^[8-9]。但在选择封闭群动物遗传检测微卫星位点时,我们不能单纯考虑 Hardy-Weinberg 遗传平衡单一因素来判定该位点是否为合适的位点,更要考虑到该位点的多态信息含量,杂合度等,本研究中虽然有 13 个位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡,但位点本身具有良好的多态性,是否适于群体遗传分析尚需更多群体验证。

参考文献:

- [1] 郑振辉,周淑佩,彭双清. 实用医学实验动物学[M]. 北京大学医学出版社,2008:128.
- [2] 刘仙菊,王艳蓉,高子琪,等. 近交系小鼠微卫星 DNA 引物的筛选和 Tm 值优化研究[J]. 实验动物科学,2012,29(1):9-13.
- [3] 王洪,岳秉飞,刘双环,等. 小鼠 11 个品系 20 个微卫星基因位点的遗传分析[J]. 中国比较医学杂志,2006,16(3):135-138.
- [4] 刘仙菊,王艳蓉,张丽芳,等. 常用近交系小鼠微卫星 DNA 多态性的分析研究[J]. 实验动物科学,2010,27(5):1-4.
- [5] Barker JSF. A global protocol for determining genetic distance among domestic livestock breeds. Proceedings of the 5 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production[J]. 1994, 21: 501-508.
- [6] Hiney HC, Zikakis JP, Haenlein GF, et al. Linkage relationships among loci of polymorphisms in blood and milk of cattle[J]. Dairy Sci, 1981,64(14):71-76.
- [7] Kunieda T, Kobayashi E, Tachibana M, et al. Polymorphic microsatellite loci of the rat (*Rattus norvegicus*). Mamm Genome,1992,3(10):564-567.
- [8] 樊兆斌,姜莉莉,杨福合. 利用微卫星标记分析 5 个家兔品种的遗传变异[J]. 中国农学通报,2011, 27(7):326-330.
- [9] Brookes AJ. The essence of SNP's[J]. Gene, 1999, 234(2): 177-186.

[修回日期]2014-10-16