



两个封闭群 NIH 小鼠群体的遗传监测结果的比较分析

魏 杰,王 洪,李芳芳,岳秉飞

(中国食品药品检定研究院,北京 100050)

【摘要】 目的 对近3年北京地区的两个 NIH 封闭群小鼠群体的遗传质量进行监测分析。方法 利用生化标记基因检测法,2011年测定 A、B 两单位 NIH 小鼠在碱性磷酸酶-1 等 14 个遗传生化标记位点上的多态性。2014 年利用相同方法原则对 B 单位的 NIH 小鼠群体进行抽样检测,比较了该小鼠群体 3 年来的遗传构成变化。结果 2011 年,A、B 两单位 NIH 小鼠群体均呈多态性的生化标记位点有 6 个(Ce2、Car2、Gpi1、Es10、Gpd1、Pgm1),且 B 单位在 Es3 位点也呈多态性;两群 NIH 小鼠在 Car2 位点有差异($P < 0.05$),在 Es3、Gpd1、Pgm1 三个位点有显著差异($P < 0.01$);两群体的群间分化系数为 0.0406,遗传一致性指数为 0.9619,遗传距离为 0.0388。与 2011 年相比,B 单位封闭群 NIH 小鼠在 2014 年出现了 2 个纯合位点(Ce2 和 Gpd1),同时 Es10 和 Gpd1 两位点差异极显著($P < 0.01$),Pgm1 位点差异显著($P < 0.05$);不同代次 NIH 小鼠群间分化系数为 0.1103,遗传一致性指数为 0.8847,遗传距离为 0.1266。结论 群体隔离、选种育种、种群数量和繁育代次等对 NIH 小鼠遗传构成差异影响显著。留种和繁育生产时应加强封闭群 NIH 小鼠的遗传监测,为其遗传质量的稳定性提供保障。

【关键词】 关键词 NIH;封闭群;生化标记基因;遗传监测

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 05-0033-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.005.008

Comparative analysis on genetic monitoring of 2 closed colonies NIH mouse

WEI Jie, Wang Hong, LI Fang-fang, YUE Bing-fei

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

【Abstract】 Objective To analyse and monitor the genetic quality of closed colony NIH mice in Beijing district for the last 3 years. **Methods** We use biochemical genetic markers (including alkaline phosphatase - 1 and the like 14 biochemical markers), selecting A and B colonies from different facilities for genetic monitoring in 2011 to study the polymorphism. And in 2014, 30 NIH mice just from B colony were monitored using the same testing and sampling methods. **Results** In 2011, NIH mice from both A and B facilities existed 6 polymorphic biochemical markers (Ce2, Car2, Gpi1, Es10, Gpd1, Pgm1); and NIH mice of B company also existed polymorphism in Es3 loci. Between the 2 NIH mice colonies, there were significant difference in Es3, Gpd1, Pgm1 loci ($P < 0.01$), and difference in Car2 locus ($P < 0.05$). FST of the 2 colonies was 0.0406, the genetic identity was 0.9619, and the genetic distance was 0.0388. In B company, NIH mice of 2014 appeared 2 homozygous loci (Ce2 and Gpd1) when compared with NIH mice of 2011. Between the 2 NIH mice colonies, there were significant difference in Es10 and Gpd1 loci ($P < 0.01$), and difference in Pgm1 locus ($P < 0.05$). Fst of the 2 colonies was 0.1103, the genetic identity was 0.8847, and the Genetic distance was 0.1266. **Conclusions** Population isolation, breeding and selection, population quantity and generation significantly affected the genetic architecture of NIH mice. So when breeding and reserving seeds, we should strengthen the

[基金项目] 国家科技支撑计划(2013BAK11B03)。

[作者简介] 魏杰(1982-),女,硕士,助理研究员。研究方向:免疫遗传检测。E-mail: jane3040320@163.com;

王洪(1977-),女,学士,副研究员。研究方向:动物遗传学。E-mail: littstar@163.com。两者为共同第一作者。

[通讯作者] 岳秉飞(1960-),男,研究员,博士。研究方向:动物遗传学。E-mail: y6784@126.com。

genetic monitoring of outbred NIH mice, in order to offer reliable genetic quality protection.

【Key words】 NIH; Closed colony; Biochemical markers; Genetic monitoring

NIH 小鼠为美国国立卫生研究所培育的封闭群小鼠,1980 年引入我国^[1]。其生长繁殖性能良好,饲养管理方便,对环境的适应性和对疾病的抵抗力强,广泛应用于药理学、毒理学、肿瘤学、基因工程等领域研究,同时也是《中国药典》2010 年版第三部规定毒种免疫原性检查以及乙肝、百白破、流感嗜血杆菌疫苗效力测定的推荐用实验动物^[2-3]。加强对 NIH 封闭群小鼠的遗传监测,明确其遗传背景概貌和维持群体遗传质量的稳定性,以为其科学应用提供有力保障。

本研究即利用 GB14923 - 2010 推荐的生化标记基因检测法,选取碱性磷酸酶 - 1 等 14 个遗传生化标记位点,于 2011 年从北京 A、B 两家单位生产的 NIH 小鼠进行了抽样和比较测定;同时于 2014 年对 B 单位 NIH 小鼠进行了连续监测,得到了北京地区近 3 年来 NIH 封闭群小鼠的遗传质量监测信息,为其生产应用提供了科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物: NIH 小鼠,雌雄各半,30 只,8 周。2011 年,在 A、B 两家单位分别取样。2014 年仅在 B 单位取样。两家单位的生产许可证号分别为【SCXK(京)20052010 - 0008】和【SCXK(京)2009 - 0017】。本单位实验动物使用许可证号【SYXK(京)2011 - 0008】。

1.1.2 主要试剂及仪器:小鼠生化标记检测试剂盒(中国食品药品检定研究院研制);乙酸纤维素薄膜(浙江台州路桥四甲生化塑料厂);BIO-RAD Model 3000Xi 电泳仪。

1.2 方法

检测方法参照国家标准 GB/T14927.1 - 2008^[4]。

1.3 结果分析

按照 GB14923 - 2010 和 GB14927.1 - 2008 判定各群体在各位点的等位基因型,利用 Popgen32 软件计算不同群体的位点信息及群体卡方值,比较群体的多态性差异。

2 结果

2.1 两个 NIH 小鼠群体的生化标记测定基因型频率

两个单位 NIH 小鼠的生化标记测定基因型频率(表 1)显示,2011 年 A 单位 NIH 小鼠有 6 个多态性生化标记位点,多态位点比率为 42.86%;B 单位 NIH 小鼠有 7 个多态性生化标记位点,多态位点比率为 50.00%。A、B 两单位共有的多态性位点为 Ce2、Car2、Gpi1、Es10、Gpd1 和 Pgm1,且 B 单位另有 Es3 位点出现了多态性。经 Popgen32 软件计算,两群体在 Car2 位点有差异($P < 0.05$),在 Es3、Gpd1、Pgm1 三个位点有显著差异($P < 0.01$)。

B 单位 2011 年 NIH 小鼠有 7 个多态性生化标记位点,多态位点比率为 50.00%;2014 年时该小鼠群体有 Ce2 和 Gpd1 两个位点发生了纯合,仅有 5 个多态性生化标记位点,多态位点比率为 35.71%。经 Popgen32 软件计算,B 单位不同代次群体在 Es10 和 Gpd1 两位点差异显著($P < 0.01$),在 Pgm1 位点有统计学差异($P < 0.05$)。

2.2 群体遗传参数分析

A、B 两单位 NIH 小鼠群体通过 Popgen32 软件计算分析得出,群间分化系数(F_{st})为 0.0406,遗传一致性指数(Genetic Identity)为 0.9619,遗传距离(Genetic Distance)为 0.0388。

B 单位 2011 年和 2014 年 NIH 小鼠群体的群间分化系数(F_{st})为 0.1103,遗传一致性指数(Genetic Identity)为 0.8847,遗传距离(Genetic Distance)为 0.1266。两组群体遗传参数比较数据详见表 2。

3 讨论

NIH 封闭群小鼠是国际通用的实验动物,在科学研究和药品生物制品检定中有着广泛的应用^[2]。但是封闭群实验动物的遗传性状容易受到环境、饲养方式等因素的影响而发生变化^[5],现有的封闭群繁育制度是否能保证其群体的遗传稳定性尚缺少相应的评估,曾有报道了不同来源的 NIH 小鼠对乙肝疫苗免疫应答的差异^[6],则对于封闭群 NIH 小鼠的遗传监测和标准化将更深刻地影响到其的通用性和结果的可重复性。

3.1 遗传分化系数

遗传分化系数 F_{st} 是测定群体间遗传分化的主要参数^[7], $F_{st} < 0.05$ 时,表示群体间有轻度遗传分化; $0.05 \leq F_{st} < 0.15$ 表示群体间有中度遗传分化; $0.15 \leq F_{st} < 0.25$ 表示群体间有中重度遗传分化;

表 1 不同单位不同年代 NIH 小鼠生化标记位点基因型频率表($n = 30$)
Tab. 1 The genotype frequency of NIH mice from different colonies and different years($n = 30$)

生化标记 位点 Biochemical markers	基因型 Genotype	A 单位 (2011 年) A unit (2011)	B 单位 (2011 年) B unit (2011)	B 单位 (2014 年) B unit (2014)
Es1	BB	1.000	1.000	1.000
Trf	BB	1.000	1.000	1.000
Hbb	SS	1.000	1.000	1.000
Akp1	BB	1.000	1.000	1.000
Pep3	BB	1.000	1.000	1.000
Mod1	AA	1.000	1.000	1.000
Idh1	AA	1.000	1.000	1.000
Es3 **	BB	0.000	0.000	0.033
	BC	0.000	0.367	0.600
	CC	1.000	0.633	0.367
Ce2	AA	0.900	0.967	1.000
	BB	0.100	0.033	0.000
Car2 *	AA	0.200	0.233	0.433
	BB	0.233	0.233	0.133
	AB	0.567	0.534	0.434
Gpi1	AA	0.267	0.167	0.267
	BB	0.400	0.433	0.400
	AB	0.333	0.400	0.333
Es10##	AA	0.967	0.933	0.500
	BB	0.000	0.000	0.200
	AB	0.033	0.067	0.300
Gpd1 **, ##	AA	0.433	0.367	1.000
	BB	0.200	0.633	0.000
	AB	0.367	0.000	0.000
Pgm1 **, #	AA	0.167	0.067	0.133
	BB	0.200	0.667	0.367
	AB	0.633	0.266	0.500

注: * 表示 2011 年 A、B 两单位群体 $P < 0.05$; ** 表示 2011 年 A、B 两单位群体 $P < 0.01$; # 表示 B 单位 2011 年和 2014 年群体 $P < 0.05$; ## 表示 B 单位 2011 年和 2014 年群体 $P < 0.01$ 。

Note: * shows $P < 0.05$ when 2011 between A and B groups NIH mice, while ** show that $P < 0.01$; # shows $P < 0.05$ in B group NIH mice of 2011 and 2014 colonies, while ## show that $P < 0.01$.

表 2 不同单位及同单位不同年代 NIH 小鼠群体遗传参数
Tab. 2 NIH colony genetic parameters of different producers and different years

	群间分化系数 Fst	遗传一致性指数 Genetic Identity	遗传距离 Genetic Distance
2011 年 A、B 单位群	0.0406	0.9619	0.0388
2011 与 2014 年 B 单位群	0.1103	0.8847	0.1266

$F_{st} \geq 0.25$ 表示群体间有重度遗传分化, 群体差异显著。

本研究中, 2011 年 A、B 两单位 NIH 群体的 $F_{st} < 0.05$, 群体间仅有轻度遗传分化。B 单位 2014 年群体和 2011 年群体的群间遗传分化系数 0.1103, 已经处于中度遗传分化状态。不同单位及同单位不同代次的 NIH 封闭群小鼠的遗传构成尚存在差异和变化。

3.2 遗传一致性指数与遗传距离

遗传一致性指数与遗传距离是反映群体遗传

相似性的两个指标, 两者呈负对数关系, 其中, 遗传距离为显性函数, 且当遗传距离大于 0.2 时, 认为两个群体为同属不同种; 在 0.03 ~ 0.2 之间时为同属同种^[8]。

本研究中, 2011 年 A、B 两单位 NIH 群体以及 B 单位 2011 年和 2014 年群体的遗传距离虽然都在 0.03 ~ 0.2 之间, 但群体隔离因素和饲养方式对群体的遗传构成均产生重要影响, 且传代的遗传距离略大于不同单位的遗传距离, 表明在封闭群的保持和繁育过程中, 饲养方式对群体的遗传性状的影响

力更大。

3.3 选育及种群大小对于遗传构成的影响

A、B 两单位均曾经过 q 基因的选育建立 NIH-q 群^[9]。经过选择后,对于疫苗检定的免疫应答反应效果得以提升。B 单位剖腹净化等技术提升了其种群的微生物等级^[10]。特殊性状的培育一方面改变了其应用特性,但另一方面也限制了种群的基因丰度,再加上保种群数量过少等,可能造成遗传的奠基者效应^[11]。

3.4 遗传生化标记检测法与封闭群遗传监测

遗传生化标记是通过同工酶、蛋白质的差异来反映基因的变化,方法成熟、位点明确、简便快速经济、结果易判读,同时也是指导封闭群选种的“二次优选法”中必须测定的生物学特性之一^[12]。本研究的生化标记测定也直观的反映了不同单位和不同代次封闭群 NIH 小鼠的遗传构成差异。在 2011 年不同单位间相差 1 个多态性位点,存在 4 个有差异的多态性位点。至 2014 年,同单位不同代次的群体间存在 3 个有差异的多态性位点且有 2 个位点已经发生纯合。这与计算的遗传参数反映的群体遗传构成一致。当然,目前可选择的遗传生化标记位点比较有限,与微卫星标记等方法相比,也存在着多态性不够丰富的不足,需要筛选更多染色体上多态性丰富的生化标记位点和通过不同评价体系综合分析封闭群的遗传质量,保证封闭群小鼠的遗传质量稳定性,实现对封闭群的遗传质量监测,为其应用提供可靠的保障支撑。

参考文献:

- [1] 孙抗林. NIH 小鼠繁殖性能的观察[J]. 上海实验动物科学, 1985, 5(3):165-166.
- [2] 张静旭,刘淑霞,马丹,等. NIH 小鼠生长繁殖性能的观察[J]. 中国实验动物学杂志, 2002, 12(5):292-293.
- [3] 章贤忠. NIH 系小鼠与昆明系小鼠生长繁殖特性及免疫反应比较[J]. 上海实验动物科学, 1990, 10(3):167-169.
- [4] GB/T 14927.1-2008. 实验动物 近交系小鼠、大鼠生化标记检测法[S].
- [5] 杨红宇. 封闭群实验小鼠的生产管理要点[J]. 贵州畜牧兽医, 2009, 33(5):27.
- [6] 马丽颖,钟曦,贺争鸣,等. 两个 NIH 小鼠种群对不同种类的乙肝疫苗免疫应答效应的比较[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(4):52-55.
- [7] Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers[J]. Mol Ecol, 2002, 11:155-165.
- [8] Theorpe J P. The molecular clock hypothesis: biochemical evaluation, genetic differentiation and systematics[J]. Am Res Ecol Syst, 1982, 13:139-168.
- [9] 邢瑞昌,宋珍珠,刘双环,等. 用于乙肝疫苗效力检定的 NIH-q 小鼠种群的建立[J]. 中国比较医学杂志, 1991, 1:8-12.
- [10] 张业斌,王春玲,吴慧英,等. 清洁级 NIH 系小鼠种群的建立与应用[J]. 上海实验动物科学, 1992, 12(1):28-30.
- [11] 周炜. 封闭群实验动物的遗传学质量控制[J]. 上海实验动物科学, 1997, 17(1):46-49.
- [12] Hedrich HJ. Genetic monitoring [M]. New York: Academic Press. 1981, Vol. 1:159-176.

[修回日期]2015-04-21