微卫星技术在 NIH 小鼠群体遗传结构分析中的 应用

郭 羽1#,王 洪2#,魏 杰2,王锡岩1,李晓晖1,闵凡贵3,岳秉飞2*

(1.北京天坛生物制品股份有限公司,北京 100176;2.中国食品药品检定研究院,北京 100050;3.广东省实验动物监测所,广东省实验动物重点实验室,广州 510663)

【摘要】 目的 应用微卫星 DNA 技术对 A 单位 NIH 小鼠和 B 单位 NIH 小鼠的遗传结构进行对比分析。方法 利用 30 个微卫星位点对 2 个 NIH 小鼠种群进行 PCR 扩增和 STR 扫描,借助统计软件 Popgene 1. 32 进行群体 遗传结构分析。结果 A 单位 NIH 群体获得 74 个等位基因型,平均杂合度为 0. 3108,多态性信息含量为 0. 2637;B 单位 NIH 群体获得 76 个等位基因型,平均杂合度为 0. 3257,多态性信息含量为 0. 2777。群体间比较显示,群体间 分化系数为 0. 3932,遗传一致性指数 0. 3971,遗传距离为 0. 9235,群体差异显著。结论 两个 NIH 小鼠群体间存 在严重的遗传分化,形成了两个不同的封闭群群体。

【关键词】 封闭群;NIH 小鼠;微卫星 DNA;遗传结构

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2017) 07-0087-06 doi: 10.3969.j.issn.1671-7856.2017.07.016

Application of microsatellite technology in the genetic structure analysis of NIH mice

GUO Yu^{1#}, WANG Hong^{2#}, WEI Jie², WANG Xi-yan¹, LI Xiao-hui¹, MIN Fan-gui³, YUE Bing-fei^{2*} (1. Beijing Tiantan Biological Product Co. Ltd., Beijing 100176, China; 2. National Institutes for Food And Drug Control, Beijing 100050; 3. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Laboratory Animals, Guangzhou 510663)

[Abstract] Objective To compare and analyze the genetic structure of NIH mice bred in Unites A and B, using microsatellite technology. **Methods** Thirty SPF 8-week old outbred NIH mice (half male and half female) of each population were randomly chosen from the Units A and B, respectively. PCR amplification and STR scan were performed to determine the genetic characteristics of two outbred populations using microsatellite loci, and the population genetic structure was analyzed with statistical software Popgene 1. 32. **Results** In the NIH mouse population form the Unit A, 74 alleles were obtained, with an average heterozygosity of 0. 3108 and polymorphism information content of 0. 2637. In the NIH mouse population from the Unit B, 76 alleles were obtained, with an average heterozygosity of 0. 3257 and polymorphism information content of 0. 2777. The inter-population comparison showed that genetic differentiation coefficient Fst was 0. 3932, the genetic identity was 0. 3971, and the genetic distance was 0. 9235. The population difference was significant. **Conclusions** There is serious genetic differentiation between the two NIH mice populations, resulting in the

[[]作者简介]郭羽(1980-),男,工程师,大学,研究方向:比较医学研究;王洪(1977-),女,副研究员,硕士,研究方向:实验动物质量控制。 #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。Email: y6784@126. com

formation of two different closed populations.

[Key words] Outbred population; NIH mice; Microsatellites DNA; Genetic structure

N:NIH 小鼠(SW),叫作 NIH 小鼠,也叫作 NIH (BXS)小鼠,于1936 年 Walter Reed Army Institute of Research 选取 12 只瑞士种小鼠育种,起初使用近交 方式交配(BXS)繁殖传代,后又封闭繁育达十年以 上培育而成。NIH 小鼠成为有近交历史的封闭群动 物,具有遗传稳定,个体差异较小的优点。NIH (SW)为屏障环境生活的小鼠,体型小,产仔多,生 长繁殖快,雄性好斗,饲养管理方便,对环境的适应 性和对疾病的抵抗力强。1977 年 WHO 建议各国使 用 NIH 小鼠作为百日咳菌苗和破伤风检定用标准 动物,结合我国以 KM 小鼠检定百日咳时出现较大 结果差异的问题,卫生部防疫司决定引进 NIH 小 鼠。1980年7月2日由北京生物制品研究所引入 该种小鼠,在国内繁育并推广使用。1991年又从中 国药品生物制品检定所(现已更名为:中国食品药 品检定研究院)引进 400 对 NIH 小鼠更新血缘,两 个 NIH(H-2q 型)群体生产至今。为降低近交系数, 每群 500 对 NIH 小鼠,严格按照封闭群生产繁殖原 则进行独立保种,闭锁繁育。

NIH小鼠是我国用量较大的小鼠之一,我国各地区的NIH小鼠种群并不多,主要存在于国家实验动物种子中心和部分实验动物生产企业,以及生物制药企业。NIH小鼠广泛应用于药理学、毒理学、细菌学等领域,以及药品、生物制品的生产与检定工作中,还可用于制备单克隆抗体。NIH小鼠由于对病毒和细菌比较敏感,中国药典上规定:百日咳疫苗原液效价测定、百日咳疫苗原液毒性检查、乙型脑炎灭活疫苗(Vero细胞)免疫原性检查、重组乙型肝炎疫苗(CHO细胞)效价测定,以上四项试验必须使用 NIH 小鼠进行^[1]。那么,封闭群小鼠的群体遗传质量必然决定应用 NIH 小鼠的疫苗检定工作的稳定性和有效性。

此前,我们测定了 A 单位 NIH 小鼠群体的血液 生理生化指标和脏器系数,我们发现测定结果与 B 单位的 NIH 小鼠群体的一些指标存在一定的差异, 研究结果表明 A 单位 NIH 小鼠已形成群体自身特 有的生物学特性参数^[2]。本研究将应用微卫星 DNA 技术比较分析 A 单位 NIH 群体和 B 单位 NIH 群体的遗传结构。

1 材料和方法

1.1 实验动物

随机选取 A 单位 NIH 小鼠 30 只,8 周龄,SPF 级,雌雄各半【SCXK(京)2015-0012】【SYXK(京) 2011-0008】。随机选取 B 单位 NIH 小鼠 30 只,8 周龄,SPF 级,雌雄各半【SCXK(京)2014-0013】 【SYXK(京)2011-0008】。

1.2 试剂和仪器设备

Taq 酶、50 bp DNA marker、dNTP、琼脂糖均购 自 Takara 公司;其余试剂均为国产。日本 Biospecmini 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, Gel Logic 212PRO 紫外与可见光凝胶分析 装置。

1.3 DNA 提取

动物安乐死后,取尾部 100 mg, -20℃冷冻保存备用。将 100 mg 组织加入到含有蛋白酶 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 ~ 100 mg/µL 作为 DNA 模板,4℃保存备用。

1.4 PCR 扩增和 STR 扫描

30 对微卫星引物分别以 FAM、HEX、TAMRA 进行荧光标记,由北京美吉桑格生物医药有限公司 合成^[3]。

A 单位的 30 份 NIH 小鼠样本基因组 DNA 和 B 单位的 30 份封闭群 NIH 小鼠样本基因组 DNA 作为 PCR 扩增模板, PCR 反应体系为 20 μL,其中:10 × buffer 2 μL,上下游引物(100 pmol/μL)各 1 μL,4 × dNTP 100 μmol/L 1.2 μL,Taq 酶 0.2 μL,50 ~ 100 ng 基因组 DNA 1 μL,纯水(ddH₂O)13.6 μL。扩增 条件:94℃预变性 5 min, 94℃变性 30 s,退火温度 30 s,72℃延伸 30 s,35 个循环,接 72℃继续延伸 8 min,扩增产物 4℃保存。

取扩增产物 5 μL 经 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳 150 V,30 min,拍照成相。PCR 扩增产物以 1:3:5 混合。取 1 μL 进行 STR 扫描检测。

1.5 STR 扫描结果的判读

利用 GeneMapperv4.0 软件,进行结果分析。扫描结果出现两种波形:一种为纯合基因型,只有一

个主波;另一种为杂合基因型,有两个主波。根据 软件读出波峰处的扩增产物的 bp 数。由 GeneMapperv4.0软件读出该群体30个样本在每个 微卫星位点的扩增片断大小。每个位点的等位基 因根据扩增片断从小到大顺序排列记录为 a,b,c,d 等。将所有样本的每个微卫星位点的基因型以 ab, bb 等形式输入 Popgene 1.32 软件的数据文件以供 统计分析。

1.6 数据统计分析

运用 Popgene 1.32 软件,分析得到在每个微卫

星位点上 30 个样本的等位基因数、有效等位基因数、香隆指数和平均杂合度。利用 Cervus 3.0 软件计算 群 体 平 均 多 态 信 息 含 量 (polymorphism information content, PIC)。按照 Nei(1978)氏法计算 两个单位 NIH 小鼠群体的遗传一致性指数和遗传 距离^[4]。

2 结果

2.1 A 单位 NIH 小鼠群体的测定结果

A 单位 NIH 小鼠微卫星测定结果见表1。在30

```
表1 A 单位 NIH 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.1 Gene frequency, average heterozygosity and polymorphism information content of 30 microsatellite loci in the NIH mice from unit A

Microsatellite 因数 Alleles Alleles 基因数 Observed Expected heterozyg- alletes osity Osi	ardy- inberg librium 0. 01 0. 05 0. 01 0. 01 —
$ \begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $	inberg librium 0. 01 0. 05 0. 01 0. 01
D1 Mit265 2 1.4706 0.4000 0.3254 0.3200 0.5004 0.2688 P < D2 Mit15 3 1.9715 0.5667 0.5011 0.4928 0.8179 0.4205 P >	librium 0. 01 0. 05 0. 01 0. 01
D1 Mit365 2 1.4706 0.4000 0.3254 0.3200 0.5004 0.2688 $P <$ D2 Mit15 3 1.9715 0.5667 0.5011 0.4928 0.8179 0.4205 $P >$	0. 01 0. 05 0. 01 0. 01
D2Mit15 3 1.9715 0.5667 0.5011 0.4928 0.8179 0.4205 P >	0. 05 0. 01 0. 01
	:0.01 :0.01
D3Mit29 2 1.3846 0.0000 0.2825 0.2778 0.4506 0.2392 P <	
D4Mit255 2 1. 3423 0. 2333 0. 2593 0. 2550 0. 4227 0. 2225 $P < 100000000000000000000000000000000000$	_
1 1.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 ^{単态位点} D5Mit48 Monomorphic loci	
D6Mit102 5 2. 2756 0. 0333 0. 5701 0. 5606 1. 0703 0. 5139 P <	0.01
D6Mit8 4 1.5557 0.3667 0.3633 0.3572 0.6715 0.3213 P <	0.01
D6Mit15 3 1.9417 0.3000 0.4932 0.4850 0.7342 0.3825 P >	0.05
D7Mit281 2 1.9912 0.5333 0.5062 0.4978 0.6909 0.3739 P >	0.05
D7Mit12 2 1.9802 0.4333 0.5034 0.4950 0.6881 0.3724 P >	0.05
D8Mit33 2 1.1421 0.1333 0.1266 0.1244 0.2449 0.1168 P <	0.01
D8Mit14 2 1.9912 0.5333 0.5062 0.4978 0.6909 0.3739 P >	0.05
D9Mit23 4 1.5216 0.4000 0.3486 0.3428 0.6841 0.3206 P >	0.05
D9Mit21 2 1.6838 0.3000 0.4130 0.4061 0.5961 0.3236 P <	0.01
1 1.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 単态位点 D10Mit12 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000	_
D11Mit4 3 1.6202 0.3000 0.3893 0.3828 0.6236 0.3212 P >	0.05
D12Mit7 2 1.1421 0.1333 0.1266 0.1244 0.2449 0.1168 P >	0.05
单态位点	
D12Nds11 1.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 Monomorphic loci	_
D13Mit3 2 1.4274 0.3667 0.3045 0.2994 0.4764 0.2546 P <	0.01
1 1.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 单态位点 D14Mit3	_
1 1.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 单态位点 D15Mit5 1 1.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000 0.0000	_
D15Mit15 2 1. 5779 0. 3448 0. 3727 0. 3662 0. 5527 0. 2992 P >	0.05
D16Mit9 2 1. 1088 0. 1034 0. 0998 0. 0981 0. 2036 0. 0932 P >	0.05
D17Mit11 4 3.0201 0.4667 0.6802 0.6689 1.2077 0.6077 P >	0.05
D17Nds3 5 2.9032 0.5667 0.6667 0.6556 1.1773 0.5883 P >	0.05
D18Mit19 3 1. 1497 0. 0345 0. 1325 0. 1302 0. 2897 0. 1251 P >	0.05
D18Mit9 2 1.9912 0.6667 0.5062 0.4978 0.6909 0.3739 P >	0.05
D19Mit16 2 1.1803 0.1667 0.1554 0.1528 0.2868 0.1411 P >	0.05
D19Mit3 2 1.5571 0.4667 0.3638 0.3578 0.5433 0.2938 P <	0.01
DXMit16 5 1.9169 0.1667 0.4864 0.4783 0.9636 0.4468 P <	0.01
均值 mean 2.4667 1.5949 0.2672 0.3161 0.3108 0.5174 0.2637	_

注:P> 0.05 表示该位点处于遗传平衡;P< 0.01 表示该位点处于遗传分化。

Note. P > 0.05 indicates the genetic equilibrium in the loci; P < 0.01 indicates the genetic differentiation in the loci.

D19Mit3

DXMit16

均值 Mean

2

4

2.5333

1.6423

1.3076

1.6432

个微卫星位点共检测出 74 个等位基因,各基因座等 位基因数1 ~ 5 个不等,其中5 个基因座(D5Mit48、 D10Mit12、D15Mit5、D12Nds11、D14Mit3)呈现单态 性,只有1 个等位基因,平均等位基因数为2.4667。 平均杂合度为0.3108。Hardy-Weinberg 遗传平衡 *P* 值中,有17 个位点 *P* > 0.05。利用 Cervus 3.0 软件 统计得到 A 单位 NIH 群体的 30 个微卫星位点的平 均多态性信息含量(PIC)为0.2637。剔除5 个单态 性位点,剩余25 个位点的平均多态信息含量(PIC) 为0.3165。

2.2 B 单位 NIH 小鼠群体的测定结果

B单位 NIH 小鼠微卫星测定结果见表 2。在 30 个微卫星位点共检测出 76 个等位基因,各基因座等 位基因数 1~6 个不等,其中 5 个基因座(D10Mit12、 D15Mit5、D12Nds11、D13Mit3、D14Mit3)呈现单态 性,只有 1 个等位基因,平均等位基因数为 2.5333。 平均杂合度为 0.3257,Hardy-Weinberg 遗传平衡 *P* 值中,有 20 个位点 *P* > 0.05。利用 Cervus 3.0 软件 统计得到 B单位 NIH 群体的 30 个微卫星位点的平 均多态性信息含量(PIC)为 0.2777。剔除 5 个单态 性位点,剩余 25 个位点的平均多态信息含量(PIC) 为 0.3365。

表 2 B 单位 NIH 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** Gene frequency, average heterozygosity and polymorphism information content of 30 microsatellite

			loci	in the NIH m	ice from Unit B			
微卫星位点 Microsatellite loci	等位基 因数 Alleles	有效等位 基因数 Effective alletes	观测杂合度 Observed heterozyg- osity	期望杂合度 Expected heterozyg- osity	平均杂合度 Average heter- ozygosity	香隆指数 Shannon's information index	多态性信息含量 Polymorphic information content	遗传平衡 P 值 Hardy- Weinberg equilibrium
D1 Mit365	2	1.3554	0.3103	0.2668	0. 2622	0. 4316	0. 2805	<i>P</i> > 0. 05
D2Mit15	3	1. 5748	0.4667	0.3712	0.3650	0.6033	0.3098	<i>P</i> > 0. 05
D3 Mit29	3	2.4096	0.9667	0. 5949	0. 5850	0.9597	0. 5060	P < 0.01
D4Mit235	2	1.7630	0. 2333	0.4401	0. 4328	0.6243	0. 3391	P < 0.01
D5 Mit48	2	1.1421	0.1333	0.1266	0. 1244	0.2449	0.1167	<i>P</i> > 0. 05
D6Mit102	5	2.6549	1.0000	0.6339	0. 6233	1.1130	0. 5482	P < 0.01
D6 Mit8	2	1.3846	0.2667	0. 2825	0. 2778	0.4506	0. 2631	P > 0.05
D6Mit15	6	3.4286	0.9667	0.7203	0.7083	1.4779	0.6731	<i>P</i> > 0. 05
D7 Mit281	2	1.7630	0.3667	0.4401	0. 4328	0.6243	0. 3391	<i>P</i> > 0. 05
D7Mit12	4	2.4226	0.9000	0. 5972	0.5872	0.9934	0. 4996	<i>P</i> < 0. 01
D8Mit33	3	1.7946	0.3000	0.4503	0.4428	0.6896	0.3585	<i>P</i> > 0. 05
D8Mit14	2	1.7241	0.4667	0. 4271	0.4200	0.6109	0. 3318	<i>P</i> > 0. 05
D9Mit21	2	1.6838	0.3000	0.4130	0.4061	0. 5961	0. 3236	<i>P</i> > 0. 05
D9Mit23	2	1.1421	0. 1333	0.1266	0. 1244	0.2449	0. 1167	<i>P</i> > 0. 05
D10Mit12	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-	-
D11Mit4	3	1.8219	0.4000	0.4588	0.4511	0.7698	0. 3934	<i>P</i> < 0. 01
D12Mit7	2	1.3423	0. 2333	0. 2593	0.2550	0. 4227	0. 2225	P > 0.05
D12Nds11	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-	-
D13Mit3	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-	-
D14Mit3	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-	-
D15Mit5	1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	-	-
D15Mit15	2	1.6000	0.3667	0.3814	0.3750	0.5623	0.3047	<i>P</i> > 0. 05
D16Mit9	2	1.3423	0.3000	0.2593	0.2550	0. 4227	0. 2225	<i>P</i> > 0. 05
D17Mit11	5	2.3468	0.6333	0. 5836	0. 5739	1.0881	0. 5244	<i>P</i> > 0. 05
D17Nds3	4	2.0666	0.4000	0. 5249	0. 5161	0.8555	0. 4266	<i>P</i> > 0.05
D18Mit19	3	1.5139	0.4000	0.3452	0. 3394	0. 6362	0. 3218	<i>P</i> > 0.05
D18Mit9	2	1.9627	0.5172	0. 4991	0. 4905	0. 6836	0. 4189	<i>P</i> > 0.05
D19Mit16	2	1.1050	0.1000	0.0966	0.0950	0. 1985	0.0905	P > 0.05

注:P> 0.05 表示该位点处于遗传平衡;P< 0.01 表示该位点处于遗传分化。 Note.P> 0.05 indicates the genetic equilibrium in the loci; P< 0.01 indicates the genetic differentiation in the loci.

0.3977

0.2397

0.3312

0.3911

0.2353

0.3257

0.5799

0.5096

0.5465

0.3146

0.3734

0.2777

P > 0.05

P > 0.05

0.3333

0.1852

0.3560

表 3 两个 NIH 小鼠群体的遗传参数 **Tab. 3** Genetic parameters of the two NIH mice populations

Tuble Schole parameters of the two will ince populations							
项目	群体分化系数	遗传一致性指数	遗传距离				
Item	Fst	Geneticidentity	Genetic distance				
参数值 Values	0. 3932	0. 3971	0. 9235				

2.3 两个群体遗传相似性比较

将 A 单位 NIH 小鼠微卫星检测结果与 B 单位的结果进行比较,发现等位基因数、平均杂合度、PIC 等相关指标有一定的差异, B 单位的结果略高于 A 单位的结果。两个群体的 PIC 值均位于 0.25 ~ 0.5,属于中等程度的多态性。在测定的 30 个位点中,两个群体均有 5 个单态性位点,其中 4 个位点(D10Mit12、D12Nds11、D14Mit3、D15Mit5)一致。

进一步分析两个群体的群间分化系数(F-statistics,Fst)、遗传一致性指数和遗传距离,结果见表3,群间分化系数为0.3932,遗传一致性指数为0.3971,遗传距离为0.9235。

3 讨论

3.1 平均杂合度、多态性信息含量和遗传平衡

杂合度或群体平衡状态是群体遗传结构分析 最直接和最有效的方法,杂合度值越高所在群体的 遗传多样性就越丰富,较理想的封闭群体的杂合度 值应介于 0.5 ~ 0.7 之间。本研究中 A 单位 NIH 小鼠群体的平均杂合度是 0.3108, B 单位的 NIH 小 鼠群体的平均杂合度是 0.3257。B 单位的杂合度 略高于 A 单位的杂合度。显然,两个群体的杂合度 都没有达到 0.5 ~ 0.7 之间,都不是理想的封闭群 小鼠群体。多态性信息含量是表示微卫星座位多 态性高低的一个指标。当微卫星座位 PIC > 0.5 时,表明该遗传标记具有高度的可提供遗传信息 性,为高度多态性座位;当 0.25 < PIC < 0.5 时, 表明该遗传标记能够较为合理的提供遗传信息,为 中度多态性座位;当 PIC < 0.25 时,表明该遗传标 记可提供的遗传信息较差,为低度多态性座位。本 研究中 A 单位 NIH 小鼠群体的平均多态性信息含 量为 0.2637, B 单位的 NIH 小鼠群体的平均多态性 信息含量为 0.2777。两个群体的多态性信息含量 均介于0.25~0.5之间,为中度多态性群体,但是 两个群体的 PIC 值均濒临 0.25,已经出现趋于低度 多态性群体的趋势。本研究结果提示保种机构有 必要采取有效措施提高群体的平均杂合度和多态 性信息含量。本研究中应用的微卫星方法曾用于 封闭群 KM 小鼠群体的遗传结构分析^[3],得到上海 KM 小鼠群体的平均杂合度为 0.5342,平均多态性 信息含量为 0.4735。说明上海 KM 小鼠群体是较 理想的封闭群小鼠群体,也说明该方法用于封闭群 小鼠群体遗传结构分析的有效性。

Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果显示,A 单位 NIH 小鼠有 10 个位点出现遗传分化(P < 0.01),高于 B 单位 NIH 小鼠,后者仅有 5 个位点(P < 0.01)。B 单位 NIH 小鼠群体的遗传多态性更为丰富。在各机构封闭繁育过程中,由于群体规模的限制,造成基因多态性的递减,逐步形成了不同 NIH 小鼠群体的平均杂合度、多态性信息含量和遗传平衡状态不完全一致的状况。

3.2 群间分化系数、遗传一致性指数和遗传距离

群间分化系数 Fst 是测定群体间遗传分化的主 要参数,Fst < 0.05 时,表示群体间有轻度遗传分 化:0.05 ≤ Fst < 0.15 时,表示群体间有中度遗传 分化:0.15 ≤ Fst < 0.25 时,表示群体间有中重度 遗传分化;Fst≥0.25时,表示群体间有重度遗传分 化,群体差异显著^[5]。本研究中两个 NIH 小鼠群体 的群间分化系数为 0.3932,大于 0.25,表明两个群 体间产生了重度的遗传分化,两个群体差异显著。 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^[6]。本研究中两个 NIH 小鼠群体的遗传一致性 指数偏低,为0.3971;遗传距离超过了0.2,为 0.9235,表明这两个群体已经不属于同一品(种)系 的动物。依据本研究应用的 30 个微卫星位点提供 的多态性信息可初步判定,该两个群体 NIH 小鼠间 存在严重的遗传分化,形成了两个不同的封闭群群 体。基于此,本机构将保种的 NIH 小鼠命名为 A 单 位 NIH 小鼠,符合遗传学要求。

3.3 生化标记检测法与微卫星 DNA 检测法的 比较

几年前,魏杰等^[7]分析了同样两个封闭群 NIH 小鼠群体基于 14 个生化标记位点的多态性差异,显 示群间分化系数和遗传距离均非常小,遗传一致性 指数高。与本研究中应用 30 个微卫星位点得到的 群体遗传结构参数大相径庭。主要原因有两个方 面:一方面是因为两种方法的测定时间不同,存在 群体遗传结构发生巨大变化的可能。另一方面,生 化标记方法与微卫星 DNA 方法选取的位点数量和 涵盖的染色体数目都有很大的差异,导致两种方法 得到不同的结果。通过两种评价方法获得的研究 结果均可以为封闭群动物的保种和繁育提供必要 的参考。

综上,本研究结果提示,源于不同保种机构的 封闭群 NIH 小鼠的群体遗传结构特征存在一定差 异,应为两个 NIH 小鼠群体补充新的血缘,提高封 闭群小鼠的群体杂合度,改善封闭群小鼠的遗传质 量。同时,保种机构有必要定期进行遗传质量监 测,建立本机构的基础数据库,从而为其繁育与应 用提供有益的参考。

致谢:本论文的研究内容得到了首都医科大学 陈振文教授的指导,特此表示感谢!

(上接第80页)

- [10] LeBlanc RE, Meriden Z, Sutton DA, et al. Cunninghamella echinulata causing fatally invasive fungal sinusitis [J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2013, 76(4): 506-509.
- [11] Maschio M, Mengarelli A, Girmenia C, et al. Trigeminal neuralgia as unusual isolated symptom of fungal paranasal sinusitis in patients with haematological malignancies [J]. Neurol Sci, 2012, 33(3): 647-652.
- [12] Kerekes J, Kaspari M, Stevenson B, et al. Nutrient enrichment increased species richness of leaf litter fungal assemblages in a tropical forest [J]. Mol Ecol, 2013, 22(10): 2827-2838.
- [13] 庞俊, 湛海伦, 刘伟鹏, 等. 肿瘤 RNA 转染 DCs 与同源 CIKs 共培养调控 Akt/NF - κB 细胞生存信号通道的实验研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(18): 2729 - 2732.
- [14] 张芳,安云芳,赵长青,等.烟曲霉菌诱导大鼠呼吸道上皮细胞 IKKα 调控 maspin 蛋白表达的初步研究 [J].中华耳鼻咽 喉头颈外科杂志,2013,48(1):48-53.
- [15] Ordonez ME, Farraye FA, Di Palma JA. Endemic fungal infections in inflammatory bowel disease associated with anti-TNF

参考文献:

- [1] 国家药典委员会编,中华人民共和国药典 2015 版,中国医药 科技出版社。
- [2] 郭羽,魏杰,王锡岩,等. Tiantanbio: NIH 小鼠血液生理生化和脏器指标的测定分析[J]. 实验动物科学,2016,33(6):45-49.
- [3] 王洪,杜小燕,徐平,等.上海 KM 小鼠种子群体遗传状况分析[J],中国比较医学杂志,2014,24(12):27-32.
- [4] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89(3): 583-590.
- $[\ 5\]$ Ballous F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers $[\ J\]$. Mol Ecol, 2002, 11(2):155-165.
- [6] Thorpe JP. The molecular dock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematics[J]. Annu Rev Ecol Syst, 1982, 13: 139 - 168.
- [7] 魏杰,王洪,李芳芳,等.两个封闭群 NIH 小鼠群体的遗传 监测结果的比较分析[J].中国比较医学杂志,2015,25
 (5):33-36.

[修回日期]2016-12-06

antibody therapy [J]. Inflamm Bowel Dis, 2013, 19(11): 2490 – 2500.

- [16] Fei M, Bhatia S, Oriss TB, et al. TNF α from inflammatory dendritic cells (DCs) regulates lung IL-17A/IL-5 levels and neutrophilia versus eosinophilia during persistent fungal infection [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(13): 5360 – 5355.
- [17] Boveland SD, Moore PA, Mysore J, et al. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinases - 2 and - 9, macrophage inflammatory protein - 2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases - 1 and - 2 in normal, purulonecrotic and fungal infected equine corneas [J]. Vet Ophthalmol, 2010, 13 (2): 81-90.
- [18] Luo JL, Tan W, Ricono JM, et al. Nuclear cytokine-activated IKKα controls prostate cancer metastasis by repressing Maspin [J]. Nature, 2007, 446(7136): 690-694.

[修回日期]2016-11-21