



# 应用微卫星标记对两个豚鼠封闭群的遗传学研究

李芳芳, 魏 杰, 王 洪, 岳秉飞

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**【摘要】** 目的 对国内两家不同单位的封闭群豚鼠开展群体遗传学分析,为封闭群豚鼠遗传检测方法和标准的建立提供基础资料。方法 应用筛选获得的25个多态性微卫星标记及荧光标记-半自动基因分型技术,对两个不同封闭群豚鼠进行遗传检测,计算其群体遗传学参数。结果 在两个豚鼠群体中共发现等位基因121个,每位点等位基因数2~10个,平均4.84个;平均期望杂合度为0.6067;平均多态信息含量为0.552。两个群体分别检测到103和116个等位基因;平均期望杂合度分别为0.5195和0.5838;平均多态信息含量分别为0.459和0.518;两个群体分别有5个位点和6个位点HWE检验 $P < 0.05$ ,显著偏离Hardy-Weinberg平衡。杂合子缺失检验表明,两群体在偏离遗传平衡的位点大多数表现出显著的杂合子缺陷( $P < 0.05$ )。群体间不同微卫星位点的平均Fst值为0.1056,表明两个种群的遗传分化程度为中等;Nei'(1972)遗传距离和Nei'(1978)无偏遗传距离分别为0.3302和0.3204。结论 两个种群都符合封闭群动物的群体遗传特征。个别位点偏离遗传平衡,推测在饲养繁殖过程中有一定程度的近交现象存在。

**【关键词】** 豚鼠;封闭群;微卫星;杂合度

**【中图分类号】** R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014)12-0033-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.012.007

## Genetic analysis of two populations of outbred colony guinea pigs using microsatellite DNA markers

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

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

**【Abstract】 Objective** To analyze the population genetics of two outbred colony guinea pigs from two institutions and provide basical information in developing genetic detection methods and standardization of the outbred guinea pigs. **Methods** 25 polymorphic microsatellite markers were screened by a fluorescent based semi-automated genotyping method for the two populations of guinea pigs, and the population genetic parameters were calculated. **Results** A total of 121 alleles were detected in the two populations, with 2 - 10 alleles and a mean 4.84 alleles at each locus. The mean expected heterozygosity was 0.6067, and the average polymorphism information content was 0.552. In the two populations, 103 and 116 alleles were detected, the mean expected heterozygosity was 0.5195 and 0.5838, and mean polymorphism information content was 0.459 and 0.518, respectively. Five loci and six loci, respectively, showed significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium ( $P < 0.05$ ) in the two populations, mostly resulted from heterozygote deficiency. The average Fst of all loci was 0.1056, which implied a moderate genetic differentiation between populations. The Nei' (1972) genetic distance and Nei' (1978) unbiased genetic distance between the two populations were 0.3302 and 0.3204, respectively. **Conclusions** Both the two

[基金项目] 科技支撑计划 2011BAH5B01, 2013BAK11B01, 2013BAK11B03。

[作者简介] 李芳芳(1988-),女,硕士生,主要研究方向:分子遗传学。Email: lifangfang0601@163.com。

[通讯作者] 岳秉飞(1960-),男,研究员,研究方向:实验动物遗传学。Email: yue-bingfei@nifdc.org.cn。

populations are consistent with a closed group of animal population genetic characteristics. Several loci deviate from HWE, which probably indicates that a certain degree of inbreeding phenomenon exists during the breeding process.

**【Key words】** Guinea pig; Outbred colony; Microsatellite; Heterozygosity; Genetic analysis

豚鼠因其特殊的生物学特性和生理解剖特点,被广泛应用于各个医学和药学的研究领域。目前,国内使用的豚鼠多为 Hartley 品系,属于封闭群,遗传结构呈杂合性<sup>[1]</sup>,由于缺乏有效地遗传监测,其实际遗传背景和遗传多样性尚不清楚。为保持豚鼠的基因杂合度及遗传稳定性,对豚鼠的遗传质量实行监测成为重要的课题,而开发一套基因组分子标记是检测的前提<sup>[2,3]</sup>。微卫星 DNA 是一类以 1-6bp 核苷酸为基本序列的多次串联重复序列,由于重复序列的数目不同,产生了 DNA 的多态性,又称简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 或短串联重复 (short tandem repeats)。微卫星标记应用于实验动物的遗传检测已被证明具有独特优势和良好前景<sup>[4-7]</sup>,特别是其高度多态性及位点充足的特点,尤其适用于封闭群的遗传检测<sup>[8]</sup>。

本研究应用筛选获得的 25 个多态性微卫星标记结合荧光标记-半自动基因分型技术,对北京的两个豚鼠封闭群进行了遗传多态性分析,为封闭群豚鼠遗传检测方法和标准的建立提供基础技术支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

豚鼠为 Hartley,分别来自两个封闭群。A 群为 1994 引自日本,封闭至今,动物 36 只,许可证号 SCXK(京)2009-0017;B 群 2004 年从 Charles River 引入,动物 28 只,许可证号 SCXK(京)2012-0001。动物使用许可证号 SYXK(京)2011-0008。

### 1.2 主要试剂及仪器

试剂:1 mol/L Tris-HCl (pH 8.0), 0.5 mol/L EDTA-2Na (pH 8.0), 6 mol/L NaI, 50 × TAE, 氯仿,异戊醇,异丙醇,乙醇, Taq 聚合酶, dNTP, 10 × PCR buffer, D2000 plus marker, 琼脂糖等,为宝如亿(北京)生物技术有限公司产品。

仪器:PCR 仪 (Bio-Rad 公司),核酸琼脂糖凝胶电泳仪 (Bio-Rad 公司),离心机 (美国 Thermo Fisher 公司),电子天平 (Mettler GB303) 等。

### 1.3 引物选择及筛选

根据相关文献<sup>[9-11]</sup>,初步选择多态性好的 40 个豚鼠微卫星位点进行实验,通过 PCR 扩增最终筛选出 25 个微卫星位点进行实验,引物信息见表

1,所有引物由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成并进行荧光标记。

### 1.4 方法

1.4.1 基因组 DNA 的提取:采取心脏采血,每只豚鼠采 500 μL 血样,并立即注入 4 mL EDTA 抗凝真空采血管中,充分摇匀并编号。参照《分子克隆指南》<sup>[12]</sup>及 Loparev VN 等<sup>[13]</sup>方案,NaI 法提取抗凝血基因组 DNA。

1.4.2 PCR 扩增:25 μL 反应体系:灭菌 dd H<sub>2</sub>O 18.3 μL;10 × PCR buffer (Mg<sup>2+</sup>) 2.5 μL;dNTP (2 mM) 2.0 μL;上游引物 (10 pmol/μL) 0.5 μL;下游引物 (10 pmol/μL) 0.5 μL;模板 (30 ng/μL) 1.0 μL;Taq 酶(2.5 U/μL) 0.2 μL。

反应条件:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s,退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 试剂为宝如亿(北京)生物技术有限公司产品。

1.4.3 等位基因分离:2.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离产物,筛选出扩增效果好的产物进行 STR 扫描。共选取三种荧光标记,分别为 FAM、HEX 和 TAMRA。

1.4.4 数据统计分析:用 GeneMapper4.0 软件分析 STR 扫描结果,读取等位基因片段大小,通过 PopGen 1.32 软件计算观测等位基因数、有效等位基因数<sup>[14]</sup>、观测杂合度、期望杂合度、F-统计量、Shannon 信息指数、Nei 遗传相似度及遗传距离<sup>[15,16]</sup>等指标。在线软件 GenePop 对各位点进行 Hardy-Weinberg 平衡检验及杂合子缺失检验。PIC\_CALC 软件对每个位点进行多态信息含量(PIC)分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 各微卫星位点在总群体上的遗传分布

统计 25 个微卫星位点在两个豚鼠群体各个体的基因型,计算各位点的观察等位基因数、有效等位基因数、观察杂合度、期望杂合度、Shannon 信息指数、多态信息含量、F-统计量,结果见表 2。25 个微卫星位点在两个群体中共发现 121 个等位基因,每个位点 2~10 个,平均 4.84 个。有效等位基因数在 1.0812~7.0865 之间,平均为 3.148;观察杂合度在 0.0781~0.8281 之间,平均为 0.4726;期望杂合度在 0.0757~0.8656 之间,平均为 0.6070;Shannon

信息指数在 0.165 ~ 2.0572 之间,平均为 1.1702;多态信息含量 (PIC) 在 0.072 ~ 0.843 之间,平均

表 1 25 个豚鼠微卫星位点的相关信息

Tab.1 Characteristics of 25 microsatellite loci from the guinea pigs

位点 Locus	引物序列 Primer sequence (5' - 3')	产物长度(bp) Product length	退火温度 Tm/°C
Cpo14	TGGGTGTTATGTTGTTT GCTACTCCAGTTGCTTTC	342 - 350	55
HZ032	TGTTTCAGCCCCAGACTC CTCAAGAAGACAAAAGGAAAGA	256 - 272	55
HZ074	GCTGGCCTGGAATGATACC ACAGGAAGGAAGTGGGAAAAGGAG	230 - 255	60
Cpo13	GTGGGTCCAGGGTCATC CCTCCATCCTCCAAATC	184 - 188	55
HZ033	GATATTTGGATGATTACTTGTGTT CCAGGTTGTGAGGATGACT	293 - 333	55
HZ086	TGTCCATTCTTGTCTACTCAG TACTTGCCCTTTTACTACAG	258 - 269	55
HZ067	GCCCAGCAAGCGTGAGG TTTGTGGGGGAATTTAGAAGGAT	234 - 236	55
Cpo11	AGGAGCAAACCTTGACT AACCACTTTGGGATAGAA	167 - 171	50
Cpo3	GGAATACATAAGCAAAAC ATAAATCAGCCCCAGCA	274 - 280	50
Cpo6	GAGTCTGAAGTATGGCAAA ACAAGGACAAGAAAGATAAAGT	231 - 239	52
HZ049	CTGTAGGTAGATGATGGCTGTC TCTTFCCTTTTGTATGCTGAT	226 - 250	54
HZ075	GGCCCTCCCTTCACTTC TAAATCCTCAAACCATCAACTTCA	169 - 175	55
HZ085	GTCTTTCTGGTCTGTATCTTAG ATGCCATGAGTCAATTTCCAGTT	196 - 208	55
HZ031	ACTCCAGGGCAGAAGCAACAT GGGTACCGAGGGCATAAC	270 - 290	62
HZ065	AAGTTTGTACATTCCATA AGCCTCTTCTGTGTCTGTC	209 - 227	56
HZ066	CTCTTTCCTTCTTCTTCTTCC GTGGCCCTGACATCTCG	154 - 178	60
HZ046	CTCACCTCCTTCTCCTCTTC CTAAACAACCAATGGGCTACAG	172 - 257	57
HZ088	GTGGCTGAACCTAGAATGAGTGA GCAAGGCAGTGAATACAGC	225 - 233	60
Cpo8	ATAACTGTCACAGCCTAAT TATGAAAGCACGTAAAAC	272 - 303	52
HZ030	CCATGTCCTTCTTCCACTAC ATTGATCCATACCCATTTA	150 - 160	56
HZ051	ACCTGGGATTTAGCTGAGTGT CTTCTTCTTCTTCTTCTTGTTC	169 - 184	55
HZ087	AGCGAGACAGAATAATAGGAAAAT AGGGGTGCCATGAAATCTC	208 - 220	57
HZ050	GATGGCCTTTGGTTGGATGG GGAGGAGAAGAAGAGGAAAAGAA	235 - 264	57
HZ072	CAAATAGCTCTGTGCAAACTGGTA AAGAAAGAAAAGATGGAAGGAAGG	236 - 256	55
HZ048	AGATAGGGAGAAGATAGGGGAGAG CCTGATGCATGGTGGTTGGTAGAG	212 - 214	62

表 2 25 个微卫星位点在总群体上的遗传分布  
 Tab. 2 Genetic distribution of 25 microsatellite loci in the two populations

位点 Locus	观察等位 基因数 (na)	有效等位 基因数 (ne)	观察杂合 度 (Ho)	期望杂合 度 (He)	Shannon 信息指数 (I)	多态信息 含量 (PIC)	F - 统计量		
							Fis	Fit	Fst
Cpo14	5	4.8160	0.6094	0.7986	1.5892	0.759	0.1096	0.2474	0.1548
HZ032	7	2.6460	0.3125	0.6270	1.2516	0.567	0.0491	0.4918	0.4656
HZ074	7	4.4019	0.8281	0.7789	1.6458	0.740	-0.1374	-0.0770	0.0531
Cpo13	3	2.5753	0.4375	0.6165	1.0059	0.531	0.2740	0.2915	0.0241
HZ033	9	7.0865	0.7969	0.8656	2.0572	0.843	0.0296	0.0759	0.0477
HZ086	4	3.3341	0.2188	0.7056	1.2841	0.646	0.5230	0.6830	0.3356
HZ067	2	1.5193	0.3125	0.3445	0.5253	0.283	0.0512	0.0704	0.0202
Cpo11	3	1.9622	0.1562	0.4942	0.7819	0.403	0.6660	0.6675	0.0045
Cpo3	2	1.0812	0.0781	0.0757	0.1650	0.072	-0.0469	-0.0424	0.0043
Cpo6	5	3.6951	0.7031	0.7351	1.3872	0.679	0.0206	0.0381	0.0178
HZ049	3	2.1400	0.5000	0.5369	0.8579	0.443	0.0548	0.0603	0.0059
HZ075	3	2.4016	0.4219	0.5882	0.9485	0.495	0.2417	0.2545	0.0169
HZ085	4	1.8733	0.4062	0.4699	0.8742	0.427	0.1291	0.1330	0.0045
HZ031	6	3.3907	0.6250	0.7106	1.4182	0.666	-0.0873	0.1135	0.1847
HZ065	2	1.6787	0.4375	0.4075	0.5941	0.323	-0.0762	-0.0694	0.0063
HZ066	7	4.6125	0.5625	0.7895	1.6905	0.753	0.2103	0.2872	0.0974
HZ046	10	5.6071	0.6250	0.8281	1.9198	0.799	0.1759	0.2420	0.0802
HZ088	3	1.6328	0.3438	0.3906	0.6830	0.344	0.0813	0.1293	0.0523
Cpo8	5	3.0878	0.3750	0.6815	1.2943	0.627	0.3746	0.4438	0.1106
HZ030	5	2.9219	0.3607	0.6632	1.2294	0.602	0.1301	0.4549	0.3734
HZ051	5	3.4860	0.6406	0.7188	1.3770	0.665	-0.0118	0.0924	0.1031
HZ087	4	1.3637	0.2500	0.2688	0.5753	0.255	0.0686	0.0800	0.0122
HZ050	8	5.0196	0.6875	0.8071	1.7972	0.774	0.0665	0.1412	0.0800
HZ072	7	4.4019	0.6094	0.7789	1.6185	0.737	0.1661	0.2184	0.0627
HZ048	2	1.9612	0.5156	0.4940	0.6832	0.370	-0.0626	-0.0532	0.0088
Mean	4.8400	3.1480	0.4726	0.6070	1.1702	0.552	0.1233	0.2159	0.1056
St. Dev	2.2855	1.5119	0.1961	0.1985	0.4918	0.202			

## 2.2 两群体遗传多样性比较

如表 3 所示, A 群和 B 群分别检测到 103 和 116 个等位基因; 平均观察杂合度分别为 0.4467 和 0.5062; 平均期望杂合度分别为 0.5195 和 0.5838; 平均多态信息含量分别为 0.459 和 0.518。可以看出, B 群的豚鼠群体遗传多样性稍大于 A 群。

## 2.3 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

本研究采用马可夫链法<sup>[17]</sup>计算两个群体每个位点 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验的精确 P 值 [P(HWE)]、杂合子缺陷 P 值 [P(ht. def)] 与杂合子过多的 P 值 [P(ht. exc)], 并计算相应的 Fis (W&C) 和 Fis (R&H), 结果见表 4。A 种群有 5 个位点显著

偏离 Hardy-Weinberg 遗传平衡 [P(HWE) < 0.05], 偏离平衡的这 5 个位点中有 4 个表现出杂合子缺陷 [P(ht. def) < 0.05]; B 种群有 6 个位点显著偏离 Hardy-Weinberg 遗传平衡 [P(HWE) < 0.05], 偏离平衡的这 6 个位点中有 5 个表现出杂合子缺陷 [P(ht. def) < 0.05]。

## 2.4 群体间遗传关系

遗传分化系数 (Fst) 和遗传距离结果见表 2。两个群体 25 个位点的 Fst 范围从 0.0043 到 0.4656, 平均为 0.1056。两群体的 Nei's (1972) 遗传距离和 Nei's (1978) 无偏遗传距离分别为 0.3302 和 0.3204。

表 3 两个封闭群豚鼠的遗传多样性

Tab. 3 Genetic diversity of the two guinea pig outbred colonies

位点 Locus	A 群					B 群						
	观察等位 基因数 (na)	有效等位 基因数 (ne)	观察杂 合度 (Ho)	期望杂 合度 (He)	Nei	多态信息 含量 (PIC)	观察等位 基因数 (na)	有效等位 基因数 (ne)	观察杂 合度 (Ho)	期望杂 合度 (He)	Nei	多态信 息含量 (PIC)
Cpo14	4	3.0894	0.6944	0.6858	0.6763	0.610	5	2.9867	0.5000	0.6773	0.6652	0.607
HZ032	2	1.2129	0.1944	0.1780	0.1755	0.160	7	2.0713	0.4643	0.5266	0.5172	0.496
HZ074	6	3.2400	0.7500	0.7011	0.6914	0.641	7	4.6391	0.9286	0.7987	0.7844	0.755
Cpo13	3	2.3143	0.4444	0.5759	0.5679	0.489	3	2.7365	0.4286	0.6461	0.6346	0.558
HZ033	9	5.2153	0.8056	0.8196	0.8083	0.781	8	5.9394	0.7857	0.8468	0.8316	0.810
HZ086	4	2.3715	0.2222	0.5865	0.5783	0.521	2	1.5077	0.2143	0.3429	0.3367	0.280
HZ067	2	1.3846	0.2222	0.2817	0.2778	0.239	2	1.6897	0.4286	0.4156	0.4082	0.325
Cpo11	3	1.9817	0.1111	0.5023	0.4954	0.397	3	1.9192	0.2143	0.4877	0.4790	0.405
Cpo3	2	1.0571	0.0556	0.0548	0.0540	0.053	2	1.1128	0.1071	0.1032	0.1014	0.096
Cpo6	4	3.6610	0.7222	0.7371	0.7269	0.676	5	3.3720	0.6786	0.7162	0.7034	0.650
HZ049	3	2.1475	0.5000	0.5419	0.5343	0.455	3	2.0991	0.5000	0.5331	0.5236	0.419
HZ075	3	2.6155	0.3611	0.6264	0.6177	0.537	3	2.0741	0.5000	0.5273	0.5179	0.416
HZ085	4	1.8501	0.4167	0.4660	0.4595	0.420	4	1.8869	0.3929	0.4786	0.4700	0.426
HZ031	5	1.8088	0.5000	0.4534	0.4471	0.414	6	3.7783	0.7857	0.7487	0.7353	0.691
HZ065	2	1.6000	0.4444	0.3803	0.3750	0.305	2	1.7738	0.4286	0.4442	0.4362	0.341
HZ066	5	3.3927	0.5833	0.7152	0.7052	0.653	7	3.4690	0.5357	0.7247	0.7117	0.666
HZ046	9	4.2010	0.6389	0.7727	0.7620	0.728	10	4.0000	0.6071	0.7636	0.7500	0.716
HZ088	3	1.3204	0.2778	0.2461	0.2427	0.219	3	2.1104	0.4286	0.5357	0.5261	0.459
Cpo8	5	2.4947	0.3611	0.6076	0.5992	0.518	3	2.5413	0.3929	0.6175	0.6065	0.526
HZ030	2	1.4922	0.3056	0.3345	0.3299	0.275	5	2.1151	0.4400	0.5380	0.5272	0.494
HZ051	4	2.5337	0.5556	0.6138	0.6053	0.532	5	3.1741	0.7500	0.6974	0.6849	0.632
HZ087	4	1.2966	0.2500	0.2320	0.2288	0.220	4	1.4452	0.2500	0.3136	0.3080	0.285
HZ050	8	3.2199	0.6389	0.6991	0.6894	0.640	8	4.9620	0.7500	0.8130	0.7985	0.776
HZ072	5	3.1726	0.6111	0.6944	0.6848	0.622	7	4.4672	0.6071	0.7903	0.7761	0.742
HZ048	2	1.9059	0.5000	0.4820	0.4753	0.362	2	1.9975	0.5357	0.5084	0.4994	0.375
Mean	4.1200	2.4232	0.4467	0.5195	0.5123	0.459	4.6400	2.7947	0.5062	0.5838	0.5733	0.518
St. Dev	2.0680	1.0305	0.2072	0.2050	0.2022	0.192	2.3072	1.2499	0.1997	0.1807	0.1774	0.184

Nei: Nei's (1973) expected heterozygosity

表 4 两群体的 Hardy-Weinberg 平衡及杂合子缺失和过多检验

Tab. 4 Exact test probability of HWE, probability of heterozygote deficiency and heterozygote excess test of the two populations

位点 Locus	A 群					B 群				
	P(HWE)	P(ht. def)	P(ht. exc)	Fis (W&C)	Fis (R&H)	P(HWE)	P(ht. def)	P(ht. exc)	Fis (W&C)	Fis (R&H)
Cpo14	0.4239	0.6266	0.3828	-0.0127	-0.0257	0.0371	0.0390	0.9619	0.2653	0.1354
HZ032	1.0000	1.0000	0.7276	-0.0938	-0.0949	0.0344	0.4300	0.5942	0.1203	-0.0172
HZ074	0.5063	0.8479	0.1693	-0.0708	-0.0617	0.4065	0.9870	0.0311	-0.1661	-0.1155
Cpo13	0.0773	0.0120	0.9912	0.2308	0.3017	0.0872	0.0128	0.9893	0.3408	0.3259
HZ033	0.9737	0.3818	0.6195	0.0174	0.0074	0.1666	0.3416	0.6621	0.0733	0.0248
HZ086	0.0000	0.0001	0.9999	0.6244	0.4761	0.0718	0.0718	0.9937	0.3793	0.3889
HZ067	0.2315	0.2315	0.9626	0.2135	0.2171	1.0000	0.7316	0.6271	-0.0318	-0.0324
Cpo11	0.0000	0.0000	1.0000	0.7812	0.9044	0.0003	0.0003	1.0000	0.5651	0.6075
Cpo3	1.0000	0.0000	0.9861	-0.0145	-0.0147	1.0000	1.0000	0.9472	-0.0385	-0.0391
Cpo6	0.9409	0.3635	0.6515	0.0205	0.0332	0.0686	0.1936	0.8076	0.0535	0.0630
HZ049	0.1030	0.1284	0.8779	0.0783	0.1387	1.0000	0.4346	0.7096	0.0632	0.0264
HZ075	0.0018	0.0003	0.9997	0.4270	0.4480	0.6253	0.4166	0.6842	0.0526	0.0272
HZ085	0.6247	0.2387	0.8443	0.1071	0.0633	0.2574	0.0463	0.9629	0.1818	0.2160
HZ031	0.7770	0.8903	0.2234	-0.1043	-0.0637	0.9776	0.7837	0.2670	-0.0504	-0.0449
HZ065	0.4008	0.9422	0.2881	-0.1715	-0.1735	1.0000	0.5911	0.7396	0.0357	0.0364
HZ066	0.1523	0.1653	0.8360	0.1865	0.0751	0.1618	0.0071	0.9940	0.2643	0.1859
HZ046	0.0062	0.0897	0.9103	0.1752	0.0731	0.0040	0.0267	0.9742	0.2079	0.0962
HZ088	1.0000	1.0000	0.4851	-0.1309	-0.0675	0.3911	0.0776	0.9502	0.2030	0.2319
Cpo8	0.0027	0.0087	0.9914	0.4091	0.2778	0.0472	0.0048	0.9965	0.3681	0.3944
HZ030	0.6225	0.4638	0.8551	0.0877	0.0890	0.0943	0.0033	0.9971	0.1852	0.3490
HZ051	0.5575	0.2333	0.7868	0.0962	0.0575	0.3674	0.2954	0.7070	-0.0769	0.0406
HZ087	1.0000	1.0000	0.5427	-0.0788	-0.0340	0.2041	0.1515	0.9344	0.2059	0.0712
HZ050	0.9132	0.1741	0.8361	0.0873	0.0366	0.1052	0.0411	0.9612	0.0788	0.1274
HZ072	0.3802	0.1238	0.8787	0.1215	0.0720	0.0478	0.0032	0.9968	0.2350	0.2285
HZ048	1.0000	0.7235	0.5455	-0.0379	-0.0384	1.0000	0.7478	0.5361	-0.0547	-0.0556

### 3 讨论

#### 3.1 两个封闭群豚鼠遗传多样性

有效等位基因数是基因纯合度的倒数,反映了等位基因的相互影响,可作为群体遗传变异的一个指标<sup>[18]</sup>。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。多态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 种群豚鼠在 12 个位点上呈高度多态性,在 8 个位点上呈中度多态性,在 5 个位点上呈低度多态性,平均多态信息含量为 0.459,为中度多态性种群;B 群豚鼠在 12 个位点上呈高度多态性,在 12 个位点上呈中度多态性,在 1 个位点上呈低度多态性,平均多态信息含量为 0.518,属于高度多态性种群。通过以上数据可以看出 B 群豚鼠多样性略高,这与理论相符,可能与 A 种群豚鼠引种较早,并且群体不够大有关。A 群豚鼠自 1994 年引种至今已有 20 年,其杂合度变化可能有以下 4 种原因:(1)管理失误:饲养管理不当、缺乏专业人员的监督和管理等人为失误是引起群体遗传特性改变的一个因素;(2)引入其他种群动物:封闭群动物的繁育采用封闭的方式,引入其他种群动物,也会引起遗传组成发生变化;(3)繁殖交配方式改变:封闭群动物的繁育中应避免近亲交配的出现,可通过最大避免近亲法、循环交配法或数量足够大时用随机交配法以避免近亲交配;(4)群体大小:为保持封闭群动物的遗传异质性,引种动物的数量要足够多,小型啮齿类封闭群动物引种数目一般不能少于 25 对。

根据 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果,A 种群豚鼠在 5 个位点显著偏离遗传平衡,B 种群豚鼠在 6 个位点显著偏离遗传平衡,并且两个种群偏离平衡的位点,大多表现为杂合子缺陷。导致这一现象的原因除了无效等位基因之外,大部分的偏离可能是在饲养繁殖过程中未能实现随机交配,近交程度有所升高导致的。实验动物封闭群 Hardy-Weinberg 平衡偏离现象似乎是其繁殖过程中经常

出现的一个问题<sup>[19,20]</sup>。目前由于封闭群动物普遍缺乏相应的遗传监测,因此在繁育过程中要遵守严格的操作程序以避免近交现象,同时,通过定期的遗传检测对其生产管理以及繁殖方式等作出评估及调整是必需的。

#### 3.2 两个封闭群豚鼠遗传关系

Fst 是种群之间遗传差异的一种测度。F-统计量计算结果表明,两个种群在 25 个微卫星位点的平均 Fst 为 0.1056,即群体间的遗传变异占总遗传变异的 10.56%,89.44% 的遗传变异来自群体内部的遗传多样性。依据遗传分化指数 Fst 的解释(介于 0-0.05 之间说明种群间分化很弱,0.05-0.15 之间表示中等分化,0.15~0.25 之间表示分化大,大于 0.25 表明分化极大)<sup>[21]</sup>,说明两群体间的遗传分化已达到中等水平。

遗传距离以两个群体间同一座位上相同等位基因的频率差异的函数来测定,被用以描述群体的遗传结构和品种间的差异。两群体的 Nei's (1972) 遗传距离和 Nei's (1978) 无偏遗传距离分别为 0.3302 和 0.3204,说明两群体间的亲缘关系较近。

本研究利用 25 个微卫星标记对两个种群封闭群豚鼠的遗传检测表明,两个种群均符合封闭群动物的群体遗传特征,遗传分化处于中等水平,B 种群的多样性略高于 A 种群。Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果提示种群的繁殖过程中有不同程度的近交现象存在。本研究结果可为封闭群豚鼠遗传检测方法和标准的建立提供基础资料。

#### 参考文献:

- [1] 李芳芳,岳乘飞. 豚鼠遗传检测方法研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(8): 62-66.
- [2] 李薇,江其辉,杜小燕,等. 封闭群长爪沙鼠遗传标准的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 28(2): 31-36.
- [3] 李瑞生,陈振文,李晓娟,等. 微卫星 DNA 标记在常用实验动物遗传检测中的分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(10): 75-76.
- [4] Basta PV, Whitmore SP, Basham KB, et al. Microsatellite analysis in FVB/N mice [J]. Comp Med, 2004, 54(5): 524-527.
- [5] Katoh H, Yoshino S, Inui Y, Honda S, et al. Microsatellite genotyping for genetic quality testing using sperm cells in the mouse [J]. Exp Anim, 2005, 54(4): 373-376.
- [6] 吴宝金,茅慧华,朱洪,等. 小鼠 39 个微卫星的 PCR 条件及其运用 [J]. 中国实验动物学报, 2003, 11(4): 216-220.

(下转第 46 页)

时,未对粪便进行稀释后除菌过滤,而是将粪便中所含的病毒、细菌 DNA 均进行提取后实验。这提示做病毒 PCR 检测时,最好将样本除菌过滤,以降低细菌的非特异性扩增的几率。

本研究对云南来源树鼩粪便样本检测中,显示腺病毒的阳性率达 42.9%。树鼩作为近年来最有潜力的实验动物之一,并进行系统的实验动物化工作,其病毒感染情况应引起实验动物科技界的足够重视。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 沈培清, 郑红, 刘汝文, 等. 中国树鼩实验动物化研究进展和展望 [J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 109-114.
- [ 2 ] 角建林, 刘汝文, 陈丽玲, 等. 树鼩资源的开发利用与标准化研究——我国实验动物资源建设发展战略探讨 [J]. 中国

比较医学杂志, 2009, 19(7): 73-78.

- [ 3 ] 贺争鸣. 我国资源动物的实验动物化潜力与展望 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(3): 1-7.
- [ 4 ] 殷震, 刘景华. 动物病毒学 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 1104-1129.
- [ 5 ] Darai G, Matz B, Flügel RM, et al. An adenovirus from tupaia (tree shrew), growth of the virus, characterization of viral DNA and transforming ability [J]. Virology, 1980, 104-122.
- [ 6 ] 陈元鼎, 戴国珍, 李军, 等. 树鼩大便中腺病毒的实验研究 [J]. 中国人兽共患病杂志, 1987, 3(3): 2-4.
- [ 7 ] 吴小闲, 唐恩华, 张新生, 等. 树鼩腺病毒(I 和 II 型)的生物学性状、抗原关系和血清抗体的研究 [J]. 中国医学科学院学报, 1990, 12(2): 153-156.
- [ 8 ] 韩建保, 张高红, 段勇, 等. 中缅树鼩自然感染六种病毒的血清流行病学 [J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 11-16.

[ 修回日期 ] 2014-09-27

#### (上接第 38 页)

- [ 7 ] 孟雁, 宋昌, 奥本正昭, 等. 10 个近交系小鼠的微卫星位点分析及其在遗传监测中应用的探讨(一) [J]. 中国实验动物学报, 1996, 4(1): 5-9.
- [ 8 ] 商海涛, 魏泓, 岳秉飞, 等. 应用微卫星标记对三个昆明小鼠封闭群的遗传学研究 [J]. 实验动物科学, 2009, 26(2): 1-6.
- [ 9 ] 朱亮, 蔡月琴, 屠珏, 等. 应用微卫星标记研究 Dunkin Hartley 豚鼠封闭群的遗传背景 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(1): 51-55.
- [ 10 ] 刘迪文, 杨伟伟, 吴宝金, 等. 豚鼠基因组 26 个多态性微卫星标记的筛选 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(3): 78-80.
- [ 11 ] Burgos-Paz W, Cerón-Munoz M, Solarte-Portilla C. Genetic diversity and population structure of the Guinea pig (*Cavia porcellus*, Rodentia, Caviidae) in Colombia [J]. Genet Mol Biol, 2011, 34(4): 711-718.
- [ 12 ] Sambrook J, Russell DW. 分子克隆实验指南(第 3 版) [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 1-47.
- [ 13 ] Loparev VN, Cartas MA, Monken CE, et al. An efficient and simple method of DNA extraction from whole blood and cell lines to identify infectious agents [J]. J Virol Methods, 1991, 34(1): 105-112.
- [ 14 ] Hartl DL, Clark AG. Principles of population genetics [M]. 2nd

ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1989: 41-85.

- [ 15 ] Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. Genetics, 1978, 89(3): 583-590.
- [ 16 ] Nei M. Genetic distance between populations [J]. Am Naturalist, 1972, 106: 283-292.
- [ 17 ] 刘俊娥, 乔传令, 侯鑫, 等. 一个实用的群体遗传学分析软件包—GENEPOP 3.1 版 [J]. 生物多样性, 2000, 8(2): 238-240.
- [ 18 ] Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. Introduction to Conservation Genetics [M]. Cambridge University Press, 2002, 29-62.
- [ 19 ] Degorge J. Genetic evaluation of outbred rat in microbial status and genetic evaluation of mice and rats [J]. Proceedings of the 1999 US/Japan Conference, 2000: 47-50.
- [ 20 ] Kloting I, Nitschke C, Van den Brandt J. Impact of genetic profiles on experimental studies: outbred versus wild rats [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2003, 189(1): 68-71.
- [ 21 ] Wright S. Evolution and the Genetics of Populations Variability within and among Natural Populations [M]. 1st edn. Chicago, University of Chicago Press, 1978, 395-486.

[ 修回日期 ] 2014-10-25