研究报告

白毛黑眼兔黑眼性状的遗传模式

朱亮

（浙江中医药大学动物实验研究中心/比较医学研究中心，杭州　310053）

【摘要】 **目的**　揭示白毛黑眼兔黑眼性状的遗传模式。**方法**　选取具有黑眼突变性状的白毛黑眼兔与其背景品系日本大耳白兔进行杂交，构建 6 个两代杂交家系。对杂交产生的 F1 代和 F2 代个体虹膜颜色性状的观察和统计，并应用遗传数理统计方法中常用的分离分析进行遗传模式探讨。**结果**　χ^2 检验显示，杂交实验所得虹膜颜色分布的观察值与常染色体单基因显性遗传模式的期望值差异无显著性（$P>0.05$），与常染色体隐性遗传及伴性遗传模式的期望值差异有显著性（$P<0.05$）。**结论**　白毛黑眼兔的黑眼突变是由常染色体上单个基因的变异造成的显性性状。

【关键词】 白毛黑眼兔；虹膜颜色；遗传模式

【中图分类号】Q95-33　【文献标识码】A　【文章编号】1005-4847(2015)06-0648-04

Doi：10.3969/j.issn.1005－4847.2015.06.020

Genetic patterns of iris pigment mutation in WHBE rabbits

ZHU Liang

(Laboratory Animal Research Center, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the genetic patterns of iris pigmentat mutation in the white hair black eye (WHBE) rabbits. **Methods**　To construct six two-generation families between WHBE rabbit and Japanese white rabbit, and the quantity of individuals had different eye colours in F1 and F2 generations were recorded and analyzed. **Results**　χ^2 test showed there was no significant difference between observed values and expected values in the mode of autosomal dominate inheritance ($P>0.05$), while there were significant differences between observed values and expected values in the autosomal recessive inheritance and sex-linked genetic pattern ($P<0.05$). **Conclusions**　Iris pigmentat mutation in WHBE rabbit has a monogenic character due to autosomal dominant mutation.

【**Key words**】 WHBE rabbit; Iris color; Genetic pattern

白毛黑眼兔是一种以被毛白、虹膜黑为标志性表型特征的实验兔。其历史可追溯到 1998 年，来源于红眼的日本大耳白兔种群中的突变个体。其突变背景品系日本大耳白兔为白化品系，虹膜无色素沉积。白毛黑眼兔由我中心发现并保种建立新的封闭群，后命名为日本大耳白兔黑眼系，简称白毛黑眼兔。研究显示，白毛黑眼兔在组织学、血液生化和免疫方面都有鲜明的特点[1,2]，已被用于热源检测、抗体制备和肠应激综合症造模等领域。然而其黑眼突变性状的遗传机制至今尚不明确。本研究将通过杂交实验，揭示白毛黑眼兔黑眼性状的遗传模式。

1　材料和方法

1.1　实验动物

清洁级日本大耳白兔 12 只，白毛黑眼兔 6 只，雌雄各半。所有实验兔均来自浙江中医药大学动物实验研究中心实验兔繁育中心【SCXK（浙）2010－0042】。普通环境饲养；环境温度 16℃～26℃；湿度 40%～70%；噪声≤60dB；一兔一笼（未离乳兔除外）。饲喂全价配合饲料和过滤灭菌水，自由取用。

[基金项目]浙江省科技计划项目(2013C37010)；浙江中医药大学校级科技创新团队。

[作者简介]朱亮(1978－)，女，副研究员，研究方向：实验动物分子遗传。Email：tozhuliang@126.com

1.2　方法

取 6 只白毛黑眼兔和 6 只日本大耳白兔,配对建立 6 个杂交家系。F1 代仔兔出生后 10 ~ 12 d 睁眼,此时可以观察记录仔兔的虹膜颜色和被毛颜色。待 F1 代实验兔成长到 6 ~ 8 月龄,每个家系取一只黑眼个体,与日本大耳白兔进行回交,获得 F2 代。以同样的方式观察记录仔兔的虹膜颜色。

1.3　统计学方法

计算 F1 和 F2 代不同虹膜颜色个体的数量,并分别计算比例。应用遗传数理统计方法中常用的分离分析进行遗传模式探讨[3]。常染色体显性遗传分析采用 χ^2 检验法。统计采用 Excel 软件处理,显著性检验水平为 $P = 0.05$。

2　结果

2.1　杂交实验结果

日本大耳白兔和白毛黑眼兔杂交实验结果如表 1 所示。

表 1　杂交实验结果

Tab. 1　Results of cross breeding of the rabbits

世代 Generation	个体总数 Total number			红眼个体数 Number of red iris rabbits			黑眼个体数 Number of black iris rabbits		
	总数 Sum	♂	♀	总数 Sum	♂	♀	总数 Sum	♂	♀
亲代 Parental generation	12	6	6	6	3	3	6	3	3
F1 代 F1 generation	45	24	21	0	0	0	45	24	21
F2 代 F1 generation	34	12	22	18	7	11	16	5	11

2.2　遗传模式确定

2.2.1　常染色体显性遗传

假设黑眼性状的遗传模式是常染色体单基因显性遗传。如表 2 所示,纯合子黑眼亲本和纯合子红眼亲本杂交家系 6 个,共产生 45 个 F1 代个体,全部为黑眼个体。按照单基因显性遗传性状分离法则,黑眼个体的期望值应为 45 个,红眼个体期望值为 0 个。根据公式 $\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$ 对观察值和期望值进行检验。计算结果:$\chi^2 = 0.0$。当 $d.f. = 1$ 时,$\chi^2 < \chi^2_{0.05}$,所以 $P > 0.05$。

同理,二代亲本中,杂合子黑眼个体和纯合子红眼个体杂交家系 5 个,共产生 34 个 F2 代。其中红眼个体 18 个,黑眼个体 16 个。按照单基因显性遗传性状分离法则,红眼和黑眼个体的期望值应各为 17 个。对观察值和期望值进行 χ^2 检验,结果:$\chi^2 = 0.12$。当 $d.f. = 1$ 时,$\chi^2 < \chi^2_{0.05}$,所以 $P > 0.05$。

以上统计结果提示,杂交结果符合常染色体单基因显性遗传模式。

2.2.2　常染色体隐性遗传

假设黑眼性状以常染色体隐性方式遗传,则当纯合子红眼个体和纯合子黑眼个体杂交时,子代应全部表现红眼性状。杂交实验的实际结果(表 3)显示,纯合子红眼个体和纯合子黑眼个体杂交的 6 个家系共产生 45 个子代,全部为黑眼个体。对观察值和期望值进行 x^2 检验,结果:$\chi^2 = +\infty$。当 $d.f. = 1$ 时,$\chi^2 > \chi^2_{0.05}$,所以 $P < 0.05$。因此可以排除黑眼性状为常染色体隐性遗传的可能性。

表 2　常染色体单基因显性遗传模式检验结果

Tab. 2　Test of the genetic patterns of monogenic autosomal dominate inheritance

世代 Generation	个体总数 Total number	红眼个体数(观察值) Number of red iris(O) (Observed)	红眼个体数(期望值) Number of red iris(E) (Expected)	黑眼个体数(观察值) Number of black iris(O) (Observed)	黑眼个体数(期望值) Number of black iris(E) (Expected)
亲代 Parental generation	12	6	—	6	—
F1 代 F1 generation	45	0	0	45	45
F2 代 F2 generation	34	18	17	16	17

表 3 常染色体单基因隐性遗传模式检验结果

Tab. 3 Test of the genetic patterns of monogenic autosomal recessive inheritance

世代 Generation	个体总数 Total number	红眼个体数（观察值）Number of red iris(*O*)（Observed）	红眼个体数（期望值）Number of red iris(*E*)（Expected）	黑眼个体数（观察值）Number of black iris(*O*)（Observed）	黑眼个体数（期望值）Number of black iris(*E*)（Expected）
亲代 Parental generation	12	6	—	6	—
F1 代 F1 generation	45	0	45	45	0
F2 代 F2 generation	34	18	—	16	—

2.2.3 性连锁遗传

首先考虑 Y 染色体连锁遗传。如表 4 所示，本研究中父本黑眼母本红眼的家系 6 个，共产生 48 个子代，其中有 21 个雌性子代为黑眼，有 3 个雄性个体则未表现出黑眼。对观察值和假设 Y 染色体连锁遗传模式期望值进行 χ^2 检验，结果：雄性和雌性个体红眼黑眼分布的 χ^2 值分别是 9.45 和 $+\infty$。当 $d.f.=1$ 时，$\chi^2>\chi^2_{0.05}$，所以 $P<0.05$。这不符合黑眼父本—黑眼雄性子代这种传递方式，故排除 Y 染色体伴性遗传的可能性。

再考虑 X 染色体连锁遗传的可能性。见表 5，如果为 X 染色体连锁显性遗传，则雄性子代应均为红眼，雌性子代应均为黑眼。对观察值和假设 X 染色体伴性显性遗传模式期望值进行 χ^2 检验，结果：雄性和雌性个体红眼黑眼分布的 χ^2 值分别是 $+\infty$ 和 17.07。当 $d.f.=1$ 时，$\chi^2>\chi^2_{0.05}$，所以 $P<0.05$。还有一种情况是 X 染色体连锁隐性遗传，若为此种遗传模式，则雄性子代应均为黑眼，雌性子代应均为红眼。本研究中父本红眼、母本黑眼的 5 个家系，实际共产生 16 个雄性子代和 15 个雌性子代，其中 12 个雄性子代和 11 个雌性子代表现出黑眼性状。对观察值和假设 X 染色体伴性隐性遗传模式期望值进行 χ^2 检验，结果：雄性和雌性个体红眼黑眼分布的 χ^2 值分别是 17 和 $+\infty$。当 $d.f.=1$ 时，$\chi^2>\chi^2_{0.05}$，所以 $P<0.05$。因此，可以排除 X 染色体连锁遗传的可能性。

表 4 Y 染色体伴性遗传模式检验结果

Tab. 4 Test of the genetic patterns of Y-linked inheritance

性别 Gender	亲代个体数 Number of parents		子代个体数（观察值）Number of offsprings(*O*)（Observed）		子代个体数（期望值）Number of offsprings(*E*)（Expected）	
	红眼 Red iris	黑眼 Black iris	红眼 Red iris	黑眼 Black iris	红眼 Red iris	黑眼 Black iris
♂	0	6	3	17	0	20
♀	6	0	7	21	0	0

表 5 X 染色体伴性遗传模式检验结果

Tab. 5 Test of the genetic patterns of X-linked inheritance

性别 Gender	亲代个体数 Number of parents		子代个体数（观察值）Number of offsprings(*O*)（Observed）		X 显性遗传子代个体数（期望值）Number of offsprings(*E*) in X-linked dominant model（Expected）		X 隐性遗传子代个体数（期望值）Number of offsprings(*E*) in X-linked recessivemodel（Expected）	
	红眼 Red iris	黑眼 Black iris	红眼 Red iris	黑眼 Black iris	红眼 Red iris	黑眼 Black iris	红眼 Red iris	黑眼 Black iris
♂	5	0	4	12	16	0	0	16
♀	0	5	4	11	0	15	15	0

3 讨论

杂交实验是确定某一性状基因遗传模式的最基本最有效的手段。本研究选取具有黑色虹膜突变性状的白毛黑眼兔与其背景品系日本大耳白兔进行杂交，构建了 6 个两代杂交家系。通过对杂交产生的

F1 代和 F2 代杂交兔虹膜颜色性状的观察和统计，发现黑眼性状的遗传分布与常染色体显性遗传模式高度吻合。由此推断白毛黑眼兔的黑眼突变是由常染色体上单个基因的变异造成的显性性状。

白毛黑眼突变个体从日本大耳白兔种群中分离出来后经过了长期多代针对黑眼性状的定向选育。黑眼性状在这个种群中逐渐固定下来，成为种群稳定的特征。在随后构建的白毛黑眼兔封闭群繁育过程中没有出现过红眼个体。因此，在探讨遗传模式时，认为白毛黑眼兔的黑眼性状决定位点基因型为纯合。

在构建第二代家系时，本研究选择用 F1 代个体中的黑眼个体与纯合的红眼个体（即背景品系日本大耳白兔）进行回交，而没有让 F1 代个体互交。这是为了在有限的杂交后代中获得尽量多的基因型信息。通过对 F1 代个体虹膜颜色的分析，已经初步判断黑眼性状为常染色体显性突变。如果让 F1 代个体互交，预计会出现后代中黑眼与红眼比例为 3∶1，黑眼个体中将包含纯合和杂合两种基因型。基因型不能确定的个体对于下一步遗传连锁分析是没有意义的。与之相对，选用 F1 带个体中的黑眼个体与纯合红眼个体回交，将获得黑眼与红眼个体比为 1∶1的后代，且根据不同虹膜颜色即可确定基因型，因此 F2 代中约 1/2 的个体可以用于遗传连锁分析。出于以上考虑，在二代杂交策略上选择了回交而非互交。

白毛黑眼兔黑眼性状遗传模式的确定，提示接下来利用全基因组连锁分析的方法寻找导致虹膜颜色突变的相关基因位点是可行的。本研究构建的杂交家系也将为全基因组连锁分析提供重要的动物材料和基因组 DNA 材料。

参　考　文　献

[1] 朱亮，屠珏，黄宇，等. 白毛黑眼兔等四种实验兔黑色素分布的组织学观察与比较[J]. 中国比较医学杂志，2014，24(9)：59－61.

[2] 应华忠，寿旗扬，陈民利，等. WHBE 兔的血液指标测定与比较[J]. 实验动物与比较医学，2010，30(1)：44－49.

[3] 江三多，吕宝忠，赵桐茂，等. 医学遗传学数理统计方法[M]. 北京：科学出版社，1998.

[收稿日期]　2015－09－09

·书　讯·

《树鼩基础生物学与疾病模型》

由中国科学院昆明动物研究所郑永唐、姚永刚、徐林主编的《树鼩基础生物学与疾病模型》专著 2014 年 10 月已由云南科技出版社正式出版。该专著由中国科学院昆明动物研究所动物模型与人类疾病机制院重点实验室联合中国科学院武汉病毒研究所、中国科学院武汉物理与数学研究所、中国科学院心理研究所、中国科学技术大学、昆明医科大学、华南农业大学、昆明理工大学共 8 家单位的专家学者撰写而成。作者结合自己的最新研究成果，较全面地介绍了树鼩基础生物学和疾病模型研究相关领域的最新进展与发展趋势。

全书分为树鼩基础生物学和疾病模型两篇共 28 章。第一篇涵盖了树鼩的分子进化、群体遗传多样性、基因组学、免疫遗传、肿瘤相关基因、基础生理学和代谢数据、血液生理生化、乳腺生物学、生殖生理与辅助生殖技术、共生微生物学、组织学、脑形态及脑立体定位、脑结构演化与行为、情绪相关脑区肽能神经元等树鼩基础生物学的研究内容。第二篇探讨了抑郁症、药物成瘾、情绪相关精神疾病、病毒感染、细菌感染、乳腺癌、胶质母细胞瘤、血栓疾病、代谢性疾病等模型的创建以及转基因树鼩的研究。

本书可作为从事生物学、实验动物学、医药卫生等领域的科研人员、教师、研究生和高年级大学生参考用书。

中国科学院/云南省动物模型与人类疾病机理重点实验室（Emil：wangshuang@mail.kiz.ac.cn）供稿