

Zmu-1:DHP 近交系豚鼠的培育及其分子遗传结构初步鉴定

刘迪文, 谢敏, 陈雁虹, 卫振

(浙江大学实验动物中心, 杭州 310058)

【摘要】 目的 培育近交系豚鼠品系, 建立检测豚鼠遗传结构的微卫星分子标记。方法 采取近交与回交、单线与优选繁育、选择与淘汰等方法, 试图将 Zmu-1:DHP 远交系豚鼠培育成 Zmu-1:DHP 近交系豚鼠。用 15 对已筛选出的豚鼠多态性微卫星引物(另行报道), 对该近交系及参照的 Zmu-1:DHP 远交系和 Zmu-2:DHP 近交系豚鼠 DNA 样本进行 PCR, 通过产物电泳条带分析相关品系的遗传结构, 评价各品系遗传纯合性。同样方法研究 Zmu-1:DHP 近交系各支系豚鼠的遗传结构, 评价各支系的遗传纯合性。**结果** 经过 13 年培育, 获得 8 个 20 代以上的近交豚鼠支系(窝), 每个支系分别有 1-3 只。经鉴定, Zmu-1:DHP 近交 2 系的基因频率达到 86.7%, 分别高于 Zmu-1:DHP 远交系的 6.7% 及 Zmu-2:DHP 近交系的 66.7%; 其位点平均基因数为 1.13 个, 分别低于 Zmu-1:DHP 远交系的 2.47 个及 Zmu-2:DHP 近交系的 1.33 个; Zmu-1:DHP 近交系基因型频率也高于其他品系。Zmu-1:DHP 近交系的基因类型均包含在 Zmu-1:DHP 远交系的基因内, 但缺少 Zmu-2:DHP 近交系所携带的 2 个特征基因。Zmu-1:DHP 近交系 8 个支系的基因纯合率各不相等, 第 2、8 支系基因纯合率较高。**结论** Zmu-1:DHP 近交系与 Zmu-1:DHP 远交系之间既有同源性, 又有特异性, Zmu-1:DHP 近交系第 2 支系基本培育成新的近交系豚鼠, 多个近交支系的形成有利于筛选具优势性状的支系。Zmu-2:DHP 黑色近交系携带白色品系未有的微卫星标记, 可能携有与毛色性状关联的优越性状基因。

【关键词】 近交系豚鼠; 微卫星分子标记; 遗传结构

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 01-0090-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.01.017

Breeding of Zmu-1:DHP inbred strain guinea pig and preliminary analysis of molecular genetic structure of the strain

LIU Di-wen*, XIE Min, CHEN Yan-hong, WEI Zhen

(Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

【Abstract】 Objective To breed a guinea pig inbred strain and set up a method for detection of the microsatellite markers of genetic structure in guinea pigs. **Method** Using inbreeding methods we try to breed the Zmu-1:DHP inbred strain. With 15 pairs of polymorphism microsatellite primers, the genetic homozygosity of Zmu-1:DHP inbred strain, Zmu-1:DHP outbred strain and Zmu-2:DHP inbred strain (as control) were examined by PCR. **Results** After breeding for 13 years, 8 sublines of Zmu-1:DHP inbred strain (>20 generations) were bred. After identification, the gene frequency of the second subline of Zmu-1:DHP inbred strain was 86.7%, higher than Zmu-1:DHP outbred strain (6.7%) and Zmu-2:DHP inbred strain (66.7%). The average number of loci of Zmu-1:DHP inbred strain was 1.13, lower than that of Zmu-1:DHP outbred strain (2.47%) and Zmu-2:DHP inbred strain (1.33%). The genotypic frequency of Zmu-1:DHP inbred strain was also higher than that of the other strains. The gene types of Zmu-1:DHP inbred strain were included in the genes of Zmu-1:DHP outbred strain, but Zmu-1:DHP inbred strain was short of 2 characteristic genes. The gene homozygous rates of 8 sublines of Zmu-1:DHP inbred strain were different with each other, among them, those of the 2nd and 8th

[基金项目] 卫生部科学研究基金(编号 98-2-323)。

[通讯作者] 刘迪文(1958-), 男, 研究方向: 实验动物育种与遗传学。E-mail: liudiwen2004@163.com

sublines were higher than others. **Conclusions** There are both homozygosity and specificity in the Zmu-1;DHP inbred strain and Zmu-1;DHP outbred strain. The second Zmu-1;DHP subline becomes a new inbred strain guinea pig. It is essential that the subline with the characteristic property is screened from these sublines. The guinea pigs of black Zmu-2;DHP inbred strain carrying microsatellite markers not present in the white strains, may carry optimal genes related with hair color properties.

[Key words] Inbred strain guinea pig; Microsatellite marker; Genetic structure
Corresponding author: LIU Di-wen, E-mail: liudiwen2004@163.com

豚鼠(*Cavia porcellus*)又名荷兰猪或荷兰鼠,因其特殊的解剖结构及生物学特征而广泛用于药理学、病毒及细菌学、呼吸病学、耳眼科学研究和疫苗研制等,据报道,豚鼠生物学特性比大小鼠更接近人类^[1]。目前,我国应用于实验的豚鼠主要是英国短毛种和哈脱莱 Hartley 远交系豚鼠。相对远交系动物,近交系动物基因位点纯合,遗传稳定,实验反应敏感,个体间遗传结构及实验结果一致,是探索疾病分子机理及药物作用靶点、定位疾病及正常基因等理想的实验材料。国际上常用的近交系豚鼠有美国 1906-1933 年间培育的 2 系及 13 系豚鼠^[2],我国从未成功培育近交系豚鼠,也鲜见应用近交系豚鼠的报道。本研究组于 2000 年成功培育 Zmu-1;DHP 远交系豚鼠^[3],研究发现该品系具多种优越遗传性状^[4-6]。为了建立豚鼠动物模型、深入研究优越性状的分子机理及开发优势基因,培育携带优势基因的近交系显得非常有意义。于是,2002 年笔者在 Zmu-1;DHP 远交系豚鼠的基础上启动了近交系豚鼠培育工作。

微卫星是广泛分布于基因组内含子的特定序列,微卫星重复序列因长度变化而使得同一位点的基因呈多态性,微卫星结构比较稳定易检测,因此是用于鉴定动物群体遗传相似性及定位性状基因等的分子标记^[7]。本文拟就 Zmu-1;DHP 近交系豚鼠的培育及其分子标记遗传结构鉴定作一初步报道,为我国近交系豚鼠的培育及开发应用研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

普通级 Zmu-1;DHP 远交系豚鼠(白色),来源于浙江大学实验动物中心【SCXK(浙)2012-0052】。

1.2 方法

1.2.1 Zmu-1;DHP 近交系豚鼠的培育

Zmu-1;DHP 近交系培育路径见图 1。

(1) 环境条件

采用屏障设施开放环境饲养【SYXK(浙)2012-0178】,饲养盒为 W 60 cm × L 90 cm × H 25 cm

塑料盒,垫料为消毒木片及稻草,饲喂直径 3 mm 颗粒饲料及少量青绿蔬菜,饮用消毒瓶装自来水,每周更换一次垫料。

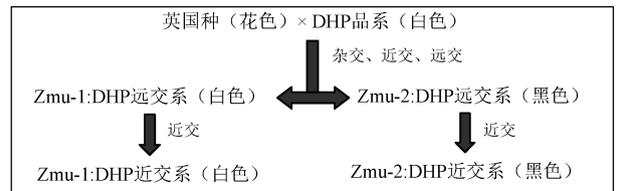


图 1 近交系豚鼠品系培育路线

Fig. 1 Route chart of breeding of guinea pig inbred strains

(2) 育种过程及方法

2002 年从 Zmu-1;DHP 远交系豚鼠种群中随机挑选雌雄各 4 只豚鼠,要求身体健康有活力,全身白色,耳朵及脚爪粉色。按雌:雄 = 1:1 配对同居,连续同胞兄妹近亲繁殖,当时采取单线平行法传代。第 5~6 代后,2 条支线出现不育、体质差及耳朵和脚爪呈黑色的豚鼠,随即淘汰,剩余豚鼠采取优选法传代,选择繁殖性能高、全身呈纯白色的 2 条支线继续繁殖。突破 10 代繁殖瓶颈效应后,两支豚鼠后代逐渐增多,分离出多个支系。至第 15 代时,改为家族优势法选择,即保持优质支系,淘汰劣质支系。因豚鼠多种优势性状与毛色连锁,所以为了方便主要选择毛色纯白及生活力强为表型的豚鼠作为种鼠繁殖。一般情况下为了加快繁殖时间,采用第 1 胎作为种鼠,个别采用第 2~3 胎留种。某些情况下,个别豚鼠生产性能较差,为防止断种,只得采取亲子代回交繁殖,但其下一代不能晋级。等下一代繁殖性能恢复正常,再继续采取同胞兄妹近亲繁殖晋级。育种过程中记录个体繁殖性能,进行个体编号,严格代数记录,编制家族系谱。

1.2.2 微卫星标记检测 Zmu-1;DHP 近交系豚鼠遗传结构

(1) 样本采集

实验组为新培育的 Zmu-1;DHP 近交系豚鼠(白色),各支系编号、代数及数量见表 1。对照组为原种 Zmu-1;DHP 远交系(白色)及 Zmu-2;DHP 近

交系(黑色,第 9 代)。豚鼠行心脏采血 1 mL,肝素抗凝,按照说明书介绍用 TaKaRa 试剂盒提取 DNA (由于 Zmu-1:DHP 近交系豚鼠繁殖量低,又刚达到 21 代不久,所以每窝样本量较少)。

表 1 Zmu-1:DHP 近交系采样情况

Tab. 1 Sampling for the Zmu-1:DHP inbred strain

支系编号 Subline No	代数 Generations	数量(只) Amount
1	20	2
	21	1
2	20	2
	21	3
3	19	2
	20	1
4	19	2
	20	2
5	19	2
	20	1
6	19	2
	20	1
7	19	2
	20	1
8	19	2
	20	3

(2) 遗传结构鉴定

①微卫星引物设计及多态性引物筛选:从加州大学圣克鲁兹学院 Genome Browser Home (<http://genome.ucsc.edu/>) 网站的数据库内随机查找核心为 AC、GT 重复序列的豚鼠微卫星 DNA,用软件设计引物。通过 PCR 对 10 份豚鼠全基因组 DNA 进行初次扩增,用凝胶电泳从 400 个位点中筛选出 110 对具多态性位点的引物(结果另处报道)。

②三个品系豚鼠对比实验:从上述多态性微卫星引物中选择 15 对多态性较高、条带少及清晰度高的引物,PCR 扩增 Zmu-1:DHP 近交系、Zmu-1:DHP 远交系及 Zmu-2:DHP 部分近交系豚鼠基因组 DNA 的微卫星位点,引物及退火温度见表 2。豚鼠微卫星位点扩增及其产物电泳、照相按常规程序操作^[8]。根据扩增产物电泳条带的一致性,评估各品系的遗传差异及近交系豚鼠培育是否达到标准。

③ Zmu-1:DHP 近交系豚鼠不同支系对比实验:同方法②,检测 Zmu-1:DHP 近交系豚鼠的微卫星位点,评估其各支系的遗传结构。

表 2 豚鼠多态性微卫星位点引物

Tab. 2 Polymorphism microsatellite primers in the guinea pigs

序号 No	位点 Loci	正反向引物 Primers	退火温度/°C Annealing temp.	序号 No	位点 Loci	正反向引物 Primers	退火温度退火温度/°C Annealing temp.
1	L70	tgctaaacgttaggaaactgcac galatggctcaactgccaaggtc	60	9	L85	cagcttgaacaaggaggta gtgtgaagtttcttgcgatgg	58
2	L53	tggcaaaagtgtcctcaatgga ccttgcatagaataactctgggca	60	10	D93	ttgccctttgttccagcaa gtccagggtttgactgc	62
3	L148	tcttgcctccagcaggtg ccctgatgaagcacttagg	60	11	D86	gctgtgaaagcttctggtgg acatgtgaggttaggcccctgc	62
4	L74	tcaaggctcagcctgaacct acacagatgttctgagtcgca	58	12	D117	gttagcatgcttccagag tgaattccagcagttggca	58
5	L45	gctgaaactagctctcagactg agagagatgttggtttgcttacc	58	13	D128	tgaatgtccaggaagcct ttgcaagcacacagctcta	62
6	D77	ctgctcttgcctgaagtgc tttgtgacctggcacaagg	62	14	D149	ctagtgcccttctatctgg gtcaactgaacctcagcac	60
7	L56	gtctgtgtaatcaggacacc gaatgggtctctggagcatgtctc	59	15	D130	aagccagatcccacactcac agatctgcttccagtgac	60
8	L57	gcactttetaacecgaatgagg gctgtcatggagaaggtcttgg	59				

2 结果

2.1 近交系豚鼠建立

2015 年 10 月诞生第 21 代豚鼠个体,命名为 Zmu-1:DHP 近交系,并形成若干个支系的群体。其中第 21 代豚鼠 2 窝,第 20 代 8 窝,第 19、18、17 代分别有 3、7、7 窝。这些不同支系豚鼠主要来源于 4 对

原种的 2 大支系,每支又保持若干分支,各成支系。

2.2 近交系外观

上述大多数个体性状为全身白毛,耳朵和脚爪呈粉红色,见图 2。在 Zmu-1:DHP 远交系豚鼠中发现,有些性状都与毛色相关,例如白色毛品系呈近视,黑色毛呈远视,等等,但有些性状如病毒敏感性实验因涉及生物安全问题,不宜操作,所以采取毛

色作为遗传标记进行选择育种。

2.3 Zmu-1:DHP 近交系的遗传纯合性

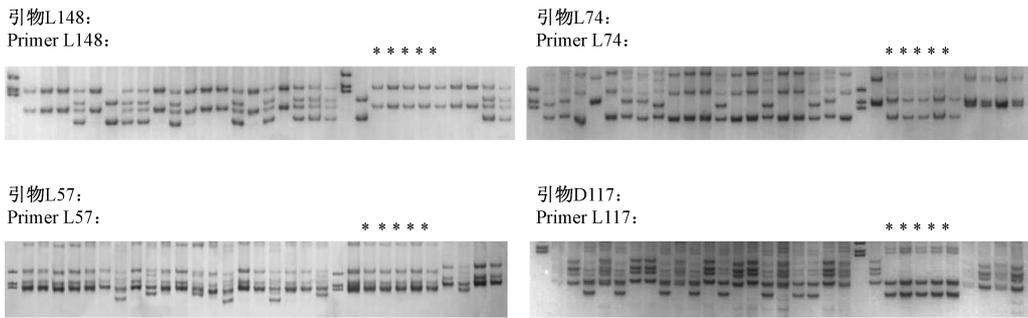
图 3 是 Zmu-1:DHP 近交系 2 支系 5 只豚鼠 (21 代 3 只, 20 代 2 只) 及 1 支系 1 只豚鼠 (21 代)、Zmu-1:DHP 远交系 20 只及 Zmu-2:DHP 部分近交系 4 只豚鼠微卫星位点的部分凝胶电泳图像, 其基因条带类型见表 3。按照实验动物遗传学标准规定, 电泳条带从快至慢按 a、b、c、d 划分, 有些等位基因 2 条连锁的带按 1 条带计算, 如 L148、L45、L56、D93 引物以前面的一条为主带。将表 3 各品系豚鼠检测到的所有多态性位点与位点总数

的比例, 全部位点中最多基因数及所有基因数等汇总成表 4。



图 2 Zmu-1:DHP 近交系豚鼠

Fig. 2 Zmu-1:DHP inbred strain guinea pig



注: 1、22 孔为 M, 2-21 孔为 Zmu-1:DHP 远交系, 23 孔为 Zmu-1:DHP 近交系 1 系, 24-28 孔为 Zmu-1:DHP 近交系 2 系 (标 *), 29-32 孔为 Zmu-2:DHP 部分近交系。

图 3 三个品系豚鼠微卫星位点扩增产物电泳图

Note. Lane 1 and 22: DNA marker; Lane 2-21: Zmu-1:DHP outbred strain; Lane 23: 1st subline of Zmu-1:

HP inbred strain; Lane 24-28: 2nd subline of Zmu-1:DHP inbred strain (*); Lane 29-32: Zmu-2:DHP inbred strain.

Fig. 3 Amplification products of three guinea pig strain microsatellites

表 3、4 显示, Zmu-1:DHP 远交系豚鼠呈多态性的微卫星位点比例较高, 多态性位点基因数较多; Zmu-2:DHP 部分近交系居中; 相比之下, Zmu-1:DHP 近交系多态性位点显著减少, 纯合型位点数增多, 说明近交系群体多态性基因位点数量减少, 培育的品系基本符合近交系标准。Zmu-1:DHP 远交系有 5 个 ab 杂合位点, 而 Zmu-1:DHP 近交 2 系和 Zmu-2:DHP 部分近交系分别有 1 个杂合位点, 说明近交系同一位点上基因趋于一致。

表 3 显示, Zmu-1:DHP 近交 1 系和 2 系间有 8 个位点的基因型出现分离, 分别形成独特的基因型或亚型, 而 Zmu-1:DHP 近交 2 系和 Zmu-2:DHP 近交系间有 11 个位点的基因不同, 说明育种过程中, 品系间遗传离差大于支系间离差。Zmu-1:DHP 近交系所携带的基因均包含在 Zmu-1:DHP 远交系内, 而 Zmu-2:DHP 部分近交系在 L57、D130 位点分别

携带 Zmu-1:DHP 远交系不含的 d、b 特征基因。

2.4 Zmu-1:DHP 近交系各支系的遗传纯合性

基于对最高代数个体遗传结构进行研究的考虑, 对 Zmu-1:DHP 近交系第 20、21 代 8 个支系 29 个样本 (见表 1) 的微卫星位点作了检测, 结果的部分凝胶电泳图像见图 4, 其基因条带类型见表 5, 并将表 5 归纳成表 6。

从表 5、6 可见, Zmu-1:DHP 近交系 8 个支系豚鼠基因均呈显著趋异现象, 在近交培育过程中, 各支系从亲代随机获得不同组合的遗传物质, 形成各自的基因型。经过 20 代培育, 有些支系遗传结构趋于纯合, 如第 2、8 支系, 而有些支系还相差甚远, 如第 1、5 支系, 这些标记为我们选择支系继续育种提供量化指标。其次, 所有支系的基因数仅为 2 个, 均少于 Zmu-1:DHP 远交系 4 个基因数, 且缺少 Zmu-2:DHP 近交系拥有的特征基因。

表 3 三个品系豚鼠多态性微卫星位点基因型分布表

Tab. 3 Genotyping of polymorphism microsatellite of the three guinea pig strains

序号 No	位点 Loci	基因型 Genotyping			
		Zmu-1;DHP 近交系 2 系 2nd subline of Zmu-1;DHP	Zmu-1;DHP 近交系 1 系 1st subline of Zmu-1;DHP	Zmu-1;DHP 远交系 Zmu-1;DHP outbred strain	Zmu-2;DHP 部分近交系 Zmu-2;DHP inbred strain
1	L70	5/5 a	1/1 a	11/20 a,9/20 b	4/4 b
2	L53	5/5 c	1/1 c	4/20a,10/20b,6/20c	4/4 c
3	L148	5/5 b	1/1 a	1/20a,9/20ab,10/20b	2/4 b,2/4 ab
4	L74	5/5 c	1/1 d	10/20a,5/20b,4/20c,1/20d	4/4 d
5	L45	2/5 ab,3/5 a	1/1 a	3/20ab,1/20a,16/20b	4/4 b
6	D77	5/5 a	1/1 b	18/20 a,2/20 b	4/4 a
7	L56	5/5 a	1/1 a	1/20 a,3/20 ab,16/20b	4/4 b
8	L57	5/5 c	1/1 c	3/20a,3/20b,14/20c	1/4 c,3/4 d
9	L85	5/5 a	1/1 b	17/2 a,3/20 b	3/4 a,1/4 b
10	D93	5/5 b	1/1 ab	1/20a,8/20ab,11/20b	4/4 b
11	D86	5/5 a	1/1 a	16/20 a,4/20 b	2/4 a,2/4 b
12	D117	5/5 a	1/1 b	8/20 a,12/20 b	4/4 b
13	D128	4/5 a,1/5 b	1/1 b	7/20 a,13/20 b	4/4 b
14	D149	5/5 a	1/1 a	16/20 a,4/20 ab	4/4 a
15	D130	5/5 a	1/1 a	20/20 a	1/4 a,3/4 b

注: Zmu-1;DHP 近交 1 系($n = 5$);Zmu-1;DHP 近交 2 系($n = 1$);Zmu-1;DHP 远交系($n = 20$);Zmu-2;DHP 部分近交系($n = 4$)。

Note. 1st subline of Zmu-1;DHP ($n = 5$);2nd subline of Zmu-1;DHP ($n = 1$);Zmu-1;DHP outbred strain($n = 20$),Zmu-2;DHP inbred strain($n = 4$).

表 4 各品系豚鼠微卫星位点汇总表

Tab. 4 Summary of the microsatellite loci of the three guinea pig strains

序号 No	品系 Strains	多态性位点占 全部位点的比例/% Ratio of polymorphism loci	多态性位点 最多基因数 Gene number of polymorphism loci	全部位点的 基因总数 Gene number in all loci	每位点平 均基因数 Average gene number in a locus
1	Zmu-1;DHP 远交系 Zmu-1;DHP outbred strain	93.3	4	37	2.47
2	Zmu-2;DHP 部分近交系 Zmu-2;DHP Inbred strain	33.3	2	20	1.33
3	Zmu-1;DHP 近交 2 系 2nd subline of Zmu-1;DHP	13.3	2	17	1.13
4	Zmu-1;DHP 近交 1 系 1st subline of Zmu-1;DHP	6.7	2	16	1.07

注: Zmu-1;DHP 近交 1 系数量太少,仅作参考。

Note. Because of the number of Zmu-1;DHP inbred strain is too small, it is for reference only.

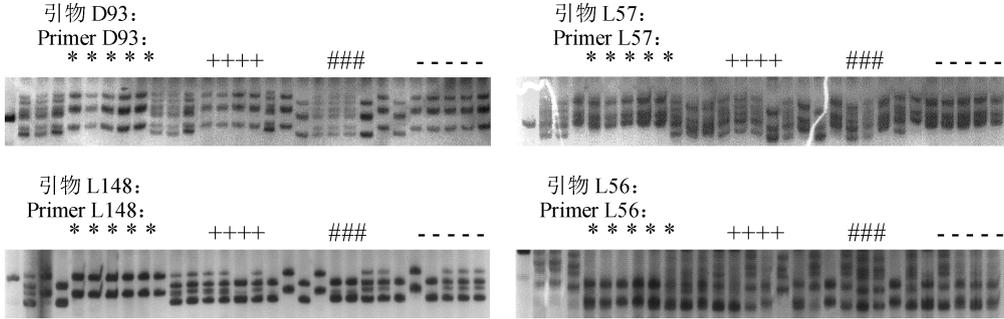
3 讨论

近交系是一种具有较高科研价值的实验动物。目前世界上已培育出近 1000 种近交系动物,包括大小鼠及豚鼠等。我国近交系动物培育工作起源于 20 世纪 50 年代^[2],主要集中在近交系小鼠培育方面,比较有名的是 1955 年中国医学科学院和天津医

学院分别培育的中国 1 号和津白 1 号小鼠;1961 年中国医科院血液研究所培育的 615 小鼠;1963 年天津医学院培育的津白 2 号小鼠;1974 年中国军事医学科学院培育的 AMMS/1 号小鼠;1983 年上海第二军医大学培育的 SMMC/c 小鼠;1996 年南京总后医院培育的 NJS 小鼠,等等。多年来近交系动物的培养已形成较为成熟的方法。本课题组当时培育近

交系豚鼠,首先考虑实验动物资源多样化反映了国家的生物科技水平,但我国尚未自主培育近交系豚鼠,其次,课题组培育的远交系豚鼠具多项优势性

状,研究这些性状的分子机理需要携带相应优势基因的近交系豚鼠,三是试图提高现有豚鼠的实验一致性及优势基因的频率。



注:1 孔为 M;2-4 孔为第 1 支系;5-9 孔为第 2 支系;10-12 孔为第 3 支系;13-16 孔为第 4 支系;17-19 孔为第 5 支系;20-22 孔为第 6 支系;23-25 孔为第 7 支系;26-30 孔为第 8 支系。

图 4 Zmu-1 :DHP 近交系各支系豚鼠微卫星位点电泳图

Note. Lane 1 :DNA marker;Lane 2-4 ;1st subline;Lane 5-9;2nd subline;Lane 10-12;3rd subline;Lane 13-16;4th subline;Lane 17-19;5th subline;Lane 20-22;6th subline;Lane 23-25;7th subline;Lane 26-30;8th subline

Fig.4 Amplification products of all sublines of the Zmu-1 :DHP inbred strain

表 5 Zmu-1 :DHP 近交系各支系豚鼠微卫星位点基因型分布表
Tab.5 Genotyping of microsatellite loci of all Zmu-1 :DHP sublines

序号 No	位点 Loci	Zmu-1 :DHP 近交系基因型 Genotyping							
		1 支系 1st	2 支系 2nd	3 支系 3rd	4 支系 4th	5 支系 5th	6 支系 6th	7 支系 7th	8 支系 8th
1	L70	2/3a, 1/3b	4/5a, 1/5b	1/3a, 2/3b	1/4a, 3/4b	2/3a, 1/3b	3/3b	2/3a, 1/3b	4/5a, 1/5b
2	L53	1/3bc, 2/3c	5/5c	3/3c	4/4bc	1/3bc, 2/3c	3/3c	3/3c	5/5bc
3	L148	1/3a,1/3b, 1/3ab	5/5b	1/3b, 2/3ab	1/4a, 3/4ab	2/3a, 1/3b	2/3a, 1/3b	1/3a, 2/3ab	1/5a,1/5b, 3/5ab
4	L74	1/3c, 2/3d	5/5c	2/3c, 1/3d	3/4c, 1/4d	1/3c, 2/3d	1/3c, 2/3d	1/3c, 2/3d	5/5d
5	L45	1/3a, 2/3b	5/5a	2/3a, 1/3b	3/4a, 1/4b	1/3a, 2/3b	1/3a, 2/3b	1/3a, 2/3b	5/5b
6	D77	2/3a, 1/3b	5/5a	3/3a	4/4a	1/3a, 2/3b	3/3a	3/3a	4/5a, 1/5b
7	L56	3/3b	5/5a	3/3a	1/4a, 3/4ab	1/3a, 2/3b	1/3a, 2/3ab	1/3a, 2/3ab	4/5a, 1/5ab
8	L57	2/3bc, 1/3c	5/5c	1/3bc, 2/3c	1/4b, 3/4bc	1/3b,1/3c, 1/3bc	2/3bc, 1/3c	1/3bc, 2/c3	5/5c
9	L85	2/3a, 1/3b	5/5a	3/3a	4/4a	2/3a, 1/3b	2/3a, 1/3b	2/3a, 1/3b	5/5a
10	D93	3/3ab	5/5b	3/3ab	4/4b	1/3a,1/3b, 1/3ab	3/3ab	2/3a, 1/3b	5/5b
11	D86	3/3a	5/5a	3/3a	4/4a	2/3a, 1/3b	2/3a, 1/3b	3/3a	5/5a
12	D117	2/3a, 1/3b	5/5a	3/3a	4/4a	3/3a	3/3a	3/3a	5/5a
13	D128	3/3b	4/5a, 1/5b	3/3b	1/4ab, 3/4b	1/3a, 2/3b	1/3ab, 2/3b	3/3b	1/5b, 4/5ab
14	D149	1/3a, 2/3b	5/5a	2/3a, 1/3b	2/4a, 2/4b	2/3a, 1/3b	2/3a, 1/3b	3/3a	4/5a, 1/5b
15	D130	2/3a, 1/3b	5/5a	2/3a, 1/3b	2/4a, 2/4b	1/3a, 2/3b	2/3a, 1/3b	2/3a, 1/3b	2/5a, 3/5b

表 6 Zmu-1;DHP 近交系各支系微卫星位点汇总表

Tab. 6 Summary of the microsatellite loci of all Zmu-1;DHP sublines

支系 Sublines	只数 No	纯合与杂合 位点比例 Ratio of homozygous; heterozygous loci	全部位点 基因型数 Genotyping number in all loci	最多基 因型数 Genotyping number
1	3	3:12	27	3
2	5	13:2	17	2
3	3	7:8	22	2
4	4	5:10	24	2
5	3	1:14	31	3
6	3	4:11	25	2
7	3	6:9	24	2
8	5	7:8	23	3

微卫星是分析动植物遗传结构较为方便可靠的分子标记,通常微卫星标记与性状基因连锁,其纯合度反映了性状基因的纯合性及个体一致性,因此为近交系间筛选与之连锁的性状基因提供分子标记^[9]。经过十多年的工作,我们初步培育出 Zmu-1;DHP 新近交系豚鼠,通过微卫星方法分析该品系的遗传背景,从表 3、4 发现与其他品系比较,该群体遗传结构一致性显著提高,基本达到近交系动物水平。结果说明本次育种工作是可行和成功的,当然该品系存在的杂合基因仍需继续近交来降低。有报道称,近交系数是通过理论计算的,不能完全准确地描述所培育的近交系动物,对每一代动物的基因纯度无法判定^[10],所以近交系动物存在一定数量的杂合基因是允许的,现有的杂合位点可能是连锁基因的缘故。本近交系豚鼠微卫星位点趋于纯合也说明其性状基因可能基本纯合,至于该近交系有无携带优势性状目的基因及其性状表达如何,或这些基因一致性如何,必须通过豚鼠表型分析才能评定。需要说明的是本研究受近交系动物产量较低的限制,检测的样本量偏少,今后要扩大生产量,增加样本数及微卫星位点证实新品系的纯合度。

从遗传规律角度讲,通过近亲繁殖,远交系动物各位点上的杂合基因将单独分配到近交系的各支系中去,形成各种基因组合。表 5、6 显示 20、21 代 Zmu-1;DHP 近交系豚鼠形成 8 个支系,各支系从亲代得到不同遗传组合,并且基因位点上的基因频率降低,等位基因趋于纯合,这就是近交系各支系容易固定及选择优越性状,定位克隆特征基因的优点。当然各支系是否携带优势基因,如前面所述要

通过表型鉴定,从中筛选具备显著优势性状的支系。一般来说,分离得到的支系越多,支系位点的基因越单纯,筛选出优势性状支系的可能性就越大。

表 3、5 显示,Zmu-1;DHP 近交系携带的基因全部来自于 Zmu-1;DHP 远交系,而 Zmu-2;DHP 黑色近交系起源于 Zmu-2;DHP 黑色远交系豚鼠,携带表 3 中的 d、b 特异性基因,Zmu-1;DHP 近交系却不携带这些基因,证明 Zmu-1;DHP 近交系在育种过程中没有受到黑色品系基因污染及出现基因突变,育种方法是可靠的。这两种毛色豚鼠起源于英国种花豚鼠,经过长期筛选演变成较远的血缘关系,黑色豚鼠获得色素基因,而白色豚鼠未获得。通常微卫星标记与某些性状基因紧密连锁,不同基因又控制不同品系特征性状,因此 Zmu-1;DHP 近交系与 Zmu-2;DHP 近交系这些基因差异可能与不同色素性状,以至于其他连锁的优势性状有关,当然这种遗传表型与特征基因的关系有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] D' Erchia AM, Gissi C, Pesole G, et al. The guinea pig is not a rodent [J]. Nature, 1996, 381(13): 597-600.
- [2] 钟品仁. 哺乳类实验动物 [M], 北京: 人民卫生出版社, 1983: 251-265.
- [3] 郭汉身, 刘迪文, 傅军, 等. DHP 白化豚鼠杂交后的生长与繁殖性能 [J]. 上海实验动物科学, 1994, 14(1): 34-36.
- [4] 刘迪文. Zmu-1;DHP 豚鼠部分生物学特性研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(5): 492-495.
- [5] 卫振, 张森, 蒋丽琴, 等. 两品系豚鼠屈光状态和眼球径的发展和比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 24(1): 92-96.
- [6] 卫振, 姜绘芳, 吴凯, 等. 两个豚鼠品系速发型哮喘模型中组胺受体 H1R、H2R 的表达及对肺功能的影响 [J]. 实验动物与比较医学, 2016, 36(2): 101-106.
- [7] Burgos-paz W, Cerón-muñoz 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.
- [8] [美] 萨姆布鲁克等著, 金冬雁等译. 分子克隆实验指南(第二版) [M], 北京, 科学出版社, 1992.
- [9] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers [J]. Nucl Acids Res, 1998, 17(16): 6463-6467.
- [10] 李瑞生, 董罡, 陈燕敏, 等. 微卫星 DNA 监控近交系小鼠的重组近交系培育研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(6): 335-338.