

Z:ZCLA 长爪沙鼠微卫星标记的遗传多态性研究

刘月环¹ 吴旧生² 萨晓婴¹ 余强¹ 禹正扬³

(1 浙江省医学科学院, 杭州, 310013)

(2 浙江大学动物科学学院, 杭州, 310029) (3 浙江大学医学院附属第一医院普外科, 杭州, 310003)

摘要: 通过对 9 个微卫星座位的扩增, 研究了 Z:ZCLA 长爪沙鼠的遗传多态性。结果表明, Z:ZCLA 长爪沙鼠在其中 1 个位点上只有一个等位基因, 在其它位点上均有 2~4 个等位基因, 平均等位基因数 2.6 个。平均杂合度 0.468 4, 平均多态信息量 0.416 6, 平均有效等位基因数 2.175 6。全群基因纯合度从 0.111 1~0.555 5, 平均 0.338 9, 提示目前本群遗传多样性水平处于中度多态。

关键词: Z:ZCLA 长爪沙鼠; 微卫星 DNA; 遗传多态性

中图分类号: Q311

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2005) 02-0168-07

Genetic Diversity of Microsatellite DNA Marker of Z: ZCLA Mongolian Gerbil

LIU Yuehuan¹ WU Jiusheng² SA Xiaoying¹ YU Qiang¹ YU Zhengyang³

(1 Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou, 310013, China)

(2 College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou, 310029, China)

(3 Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Medical College, Zhejiang University, Hangzhou, 310003, China)

Abstract: With increasing importance for the understanding aging, epilepsy, the process of domestication and sociobiological questions, the Mongolian gerbil has become a model animal and was used in pharmacological, parasitological, endocrinological, and cancer research. We have been bred Z:ZCLA Mongolian gerbil and is giving bio-purification since 1978, now we have established two standards closed colony, the conventional colony and the specific pathogen free (SPF) colony.

In this paper, we studied the polymorphism of the conventional closed colony of Z:ZCLA Mongolian gerbil with PCR-denatured polyacrylamide gel electrophoresis-silver nitrate staining and recorded their characters. We used 9 microsatellite loci as markers to detect the genetic variation of our colony, and found that locus 1 had only one allele, while locus 2-9 had two to four alleles, respectively. Average heterozygosity, allele number and polymorphism information content (PIC) was recorded as 0.4684, 2.6 and 0.4166, respectively. The individual gene homogeneity was found 0.1111-0.5555, with an average of 0.3389. Therefore, we observed the medium genetic diversity of the conventional closed colony of Z:ZCLA Mongolian gerbil.

Key words: Z:ZCLA Mongolian gerbil; Microsatellite DNA Markers; Genetic diversity

Z:ZCLA 长爪沙鼠是浙江省实验动物中心驯养的啮齿类实验动物, 该品系已成为目前国内保种时间最长、特性稳定, 应用单位最多, 使用量最大, 其基本生物学特性研究较为系统的第一类长爪沙鼠封闭群。朱智勇等 (1984) 使用 Z:ZCLA 长爪沙鼠

在国内外首先证明了长爪沙鼠对流行性出血热病毒 (EHFV) 易感, 证实它是研究 EHFV 特性和研制流行性出血热疫苗的首选实验动物, 而且他们用长爪沙鼠肾细胞培养的流行性出血热疫苗是国际上首创的野鼠型疫苗, 获 2000 年国家科技进步一等奖。

基金项目: 浙江省医药卫生科学研究基金“清洁级长爪沙鼠微卫星标记辅助保种的研究”(2002A008) 浙江省科技厅基金“Z:ZCLA 长爪沙鼠群体遗传结构及其分子保种技术的研究”(2004F11G1630003)

作者简介: 刘月环 (1974-), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事生物技术与实验动物育种研究. E-mail: liuyuehuan@mail.zjams.com.cn

收稿日期: 2004-07-12; **修回日期:** 2004-11-29

卫生部上海生物制品所生产的出血热疫苗的原种也来自 Z:ZCLA 长爪沙鼠。但迄今为止, Z:ZCLA 长爪沙鼠遗传背景的研究尚属空白。微卫星 DNA 作为遗传标记, 由于具有数量多、杂合程度高、复等位性、共显性、易于用 PCR 法快速检测及适用于自动化分析等特点, 已广泛用于遗传作图 (Copeland *et al.*, 1993)、基因定位 (Dietrich *et al.*, 1995)、亲子鉴定 (Queller *et al.*, 1993)、个体和群体的遗传差异分析 (Edwards *et al.*, 1993) 及标记辅助选择 (徐宁迎等, 1999)。本研究用微卫星作为 Z:ZCLA 长爪沙鼠的遗传标记, 采用 PCR 技术检测 Z:ZCLA 长爪沙鼠遗传多态性, 开展 Z:ZCLA 长爪沙鼠封闭群遗传领域的研究, 为长爪沙鼠资源的保护和开发利用奠定理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料来源

浙江省实验动物中心普通级 Z:ZCLA 长爪沙鼠核心群种鼠 20 只 (其中 5~10 号, 11~16 号为雄性, 1~4 号, 17~20 号为雌性), 来自同一世代 20 个家系, 基本覆盖现有群体规模 (生产许可证号

SCXK (浙) 2003-0002, 使用许可证号 SYXK (浙) 2003-0002)。

1.2 试验方法

1.2.1 引物

引物序列来自 Neumann 等 (2001), 上海生工合成。

1.2.2 模板制备

取 Z:ZCLA 长爪沙鼠肾脏, 制成 TEN 肾细胞悬液后, 采用一步法 (Zhou and Liu, 2000) 提取基因组 DNA, TE (pH 8.0) 溶解, 然后用 UV2000 (Amersham Pharmacia) 紫外分光光度计检测纯度与浓度, 4℃ 保存备用。

1.2.3 PCR 反应体系及条件

反应体系: 10 × Buffer 1.5 μl, Mg²⁺ (25 mM) 1.5~4.0 μl, dNTPs (3.2 mM) 4 μl, Taq 酶 (5 U/μl) 0.3 μl, 模板 5 μl (50~100 ng), 引物 (10 μM) 0.6 μl, 加双蒸水至 15 μl。反应条件: 94℃ 预变性 5 min, 然后进行如下 35 个循环: 94℃ 变性 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 退火 1 min, 温度因位点而异 (53~57℃) (表 1), 循环结束后进行后延伸 72℃ 10 min。

表 1 微卫星引物的序列、退火温度及重复类型

Table 1 The sequences, annealing temperature and repeat type of microsatellite primers

| 座位 Loci | 引物序列 Primer sequence from 5' to 3' | 重复类型 Repeat type | 退火温度 Annealing temperature |
|------------|---|---|-------------------------------|
| mung μ 1 | F: TGTGGCTGGCATCT R: AAGCAATCTGTCTCTGTCTG | d (GT) ₁₂ d (GA) ₂₁ | 54~56℃ |
| mung μ 2 | F: AGCCTTTATAGATGAGCAAGT R: GCCTACTAATGGTGAAGTGA | d (TC) ₂₃ | 54℃ |
| mung μ 3 | F: CAGGCACCCCAAGTTT R: GTCTACACAGGCTGAGGATGT | d (AC) ₁₇ | 55~57℃ |
| mung μ 4 | F: GGCTCCTGATTCTACATTTCT R: CAACCATTGGCAACTCTC | d (TG) ₂₂ | 53~56℃ |
| mung μ 5 | F: GCTGGGCITTAATGTTTATT R: GGTGGCTCACACTTTCTGT | d (GT) ₁₉ | 54℃ |
| mung μ 6 | F: TTTCTGGGGTCTCTTTCTCTC R: CCATCTGCAAGACTCCTCT | d (TC) ₁₉ | 54℃ |
| mung μ 7 | F: AGTCCCTATTACATCCACAAG R: TTATCCTGCAAAGCCTAAG | d (GA) ₁₆ | 54~56℃ |
| mung μ 8 | F: TGGGTCCTTTGGAAGA R: TGGCTTAAAATGAATCACTTA | d (GT) ₂₁ | 54~56℃ |
| mung μ 9 | F: GACAGAGTGGGAGGGGTATGT R: TGGCAAGTTTGTTTGA | d (CA) ₂₁ | 54~56℃ |

1.2.4 电泳和银染

PCR产物用10%的变性聚丙烯酰胺凝胶分离,银染法显色,上海培清凝胶成像系统拍照,用TotalLab、Gel-Pro Analyzer软件分析。

1.2.5 各微卫星座位上等位基因的确定与命名

根据每个微卫星座位上等位基因泳动的距离抽出3~5个样品进行测序(浙大生物所自测),将包含该座位上重复序列且泳动距离最远者命名为A,其次为B,再者为C,最后为D。

1.3 数据统计处理

1.3.1 等位基因频率(allele frequency)与基因型频率(genotypic frequency)

等位基因频率是指一个群体中某一基因对其等位基因的相对比率。基因型频率是指一个群体中某一性状的各种基因型之间的比率。对于一个处于Hardy-Weinberg平衡的群体,基因型频率在世代交替过程中保持不变。在一个基因座位上具有两个等位基因的情况有如下公式:

$$p = (2N_{AA} + N_{AB}) / [2(N_{AA} + N_{AB} + N_{BB})];$$

$$q = (2N_{BB} + N_{AB}) / [2(N_{AA} + N_{AB} + N_{BB})]$$

其中p为等位基因A的基因频率;q为等位基因B的基因频率;N_{AA}、N_{AB}和N_{BB}分别为群体中基因型为AA、AB和BB的个体数。

对于群体中的复等位基因,有如下定义:

$P_i = [2(i\bar{i}) + (i\bar{j}1) + (i\bar{j}2) + \dots + (i\bar{j}n)] / 2N$, 其中P_i为第i个等位基因的频率;i为纯合复等位基因;j₁, j₂, …, j_n为与i共显性的第1到第n个等位基因。由于微卫星呈共显性遗传,对测得的基因型进行简单的统计计算即可获得等位基因频率,N为样本含量。

基因型频率 = 基因型个体数 / 测定群体总数

1.3.2 位点的杂合度(heterozygosity, h)

按Nei和Roychoudhurg(1974)方法计算:

$h = 1 - \sum_{i=1}^m P_i^2$, $H = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r h_i$, 其中P_i为第i个等位基因的频率,n为等位基因数;r为微卫星位点数;H为平均位点杂合度。

1.3.3 多态信息量(polymorphism information content, PIC)

按Bostein等(1980)方法计算:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^m P_i^2 - \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m P_i P_j, \overline{PIC} = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r PIC_i, \text{ 其}$$

中PIC为位点平均多态信息量,r为微卫星位点数,P_i, P_j分别为第i个、第j个等位基因的频率,m为等位基因数。

1.3.4 有效等位基因数(effective number of allele, Ne)

$$Ne_i = \frac{1}{\sum_{i=1}^m P_i^2}, \overline{Ne} = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r Ne_i, \text{ 其中 } P_i \text{ 为第 } i \text{ 个等}$$

位基因的频率, \overline{Ne} 为平均有效等位基因,r、m同上。

1.3.5 基因纯合度(individual gene homogeneity)

每个个体纯合位点占总检测座位的比率。

2 结果与分析

2.1 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳结果分析

分析结果见图1。

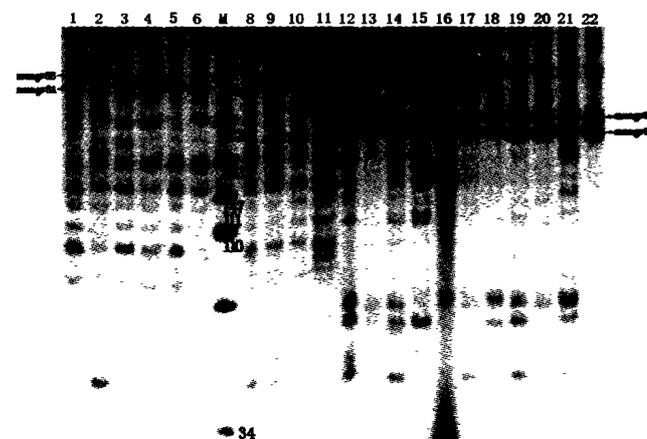


图1 变性聚丙烯酰胺凝胶电泳图

泳道7为Marker,片段大小从上到下依次是404、331、242、190、147、111、110、67、34 bp。mung μ 8(第1-11泳道)中,1、3、10、11为AB型,2、4、5、6、8、9为AA型;mung μ 9(12-22泳道)中,全部为AB型。

Fig.1 Electrophoresis results of denatured polyacrylamide gel. Line 7 is marker, it is 404, 331, 242, 190, 147, 111, 110, 67, 34 bp from up to down, mung μ 8 (line 1-11), 1, 3, 10, 11 is AB; 2, 4, 5, 6, 8, 9 is AA; mung μ 9 (line 12-22), all is AB.

2.2 Z:ZCLA长爪沙鼠群体遗传多态性的分析

表2列出了Z:ZCLA长爪沙鼠在每个微卫星座位的等位基因频率、基因型频率,9个微卫星座位经χ²检验表明均为差异极显著(P<0.01),不符合Hardy-weinberg平衡,说明群体偏离遗传平衡状态。就等位基因数量而言,各个座位上不尽相同,

mung μ 1 有一个等位基因, 基因型也只有 1 种, 即完全纯合; mung μ 2 有 3 个等位基因, 形成 3 种基因型, 其中 A 为优势基因; mung μ 3 有 4 个等位基因, 形成 2 种基因型; mung μ 4 有 4 个等位基因, 形成 5 种基因型, 纯合型的基因型有 2 种, 其中 A 为优势基因; mung μ 5 有 2 个等位基因, 形成 1 种基因型; mung μ 6 有 4 个等位基因, 形成 2 种基因型; mung μ 7 有 2 个等位基因, 形成 3 种基因型; mung μ 8 有 2 个等位基因, 形成 2 种基因型, 有 1

种纯合基因型, A 为优势基因; mung μ 9 有 2 个等位基因, 形成 1 种基因型。不同位点的等位基因数不完全相同, 这与 Neumann 等 (2001) 的结果大体一致。

2.3 Z:ZCLA 长爪沙鼠的群体遗传变异分析

不同微卫星座位作为遗传多样性研究指标的可行性与其自身及在特定群体中表现出的遗传特性有关。本研究采用 9 个微卫星座位分析 Z:ZCLA 长爪沙鼠的遗传变异性, 结果见表 3。

表 2 9 个微卫星座位等位基因频率与基因型频率

Table 2 Allele frequencies and genotypic frequencies of 9 Microsatellite loci of Z:ZCLA Mongolian gerbil

| 座位 Loci | 等位基因 Allele | 等位基因频率 Allele frequencies | 基因型 Genotypes | 基因型频率 Genotypic frequencies |
|--------------|----------------|------------------------------|------------------|--------------------------------|
| mung μ 1 | A | 1 | AA | 1 |
| mung μ 2 | A | 0.7895 | AA | 0.5789 |
| | B | 0.0526 | AB | 0.1053 |
| | C | 0.1579 | AC | 0.3158 |
| mung μ 3 | A | 0.125 | AC | 0.25 |
| | B | 0.375 | BD | 0.75 |
| | C | 0.125 | | |
| | D | 0.375 | | |
| mung μ 4 | A | 0.4375 | AA | 0.1875 |
| | B | 0.0313 | AB | 0.0625 |
| | C | 0.375 | AC | 0.125 |
| | D | 0.1563 | AD | 0.3125 |
| | CC | | 0.3125 | |
| mung μ 5 | A | 0.5 | AB | 1 |
| | B | 0.5 | | |
| mung μ 6 | A | 0.1667 | AC | 0.3333 |
| | B | 0.3333 | BD | 0.6667 |
| | C | 0.1667 | | |
| | D | 0.3333 | | |
| mung μ 7 | A | 0.5556 | AA | 0.3333 |
| | B | 0.4444 | AB | 0.4444 |
| | | | BB | 0.2222 |
| mung μ 8 | A | 0.8 | AA | 0.6 |
| | B | 0.2 | AB | 0.4 |
| mung μ 9 | A | 0.5 | AB | 1 |
| | B | 0.5 | | |

9 个座位 (座位 1~9) 的等位基因数目分别是 1、3、4、4、2、4、2、2、2 个, 平均等位基因数

为 2.6 个; 杂合度分别是 0、0.3490、0.6875、0.6426、0.5、0.7222、0.4938、0.32、0.5, 平均杂

合度为 0.4684; 多态信息量分别是 0、0.3455、0.6743、0.6351、0.375、0.7037、0.3719、0.2688、0.375, 平均 0.4166。有效等位基因数在 9 个座位

上分别是 1、1.5362、3.2、2.7978、2、3.6、1.9756、1.4706、2, 平均有效等位基因数为 2.1756 个。

表 3 9 个微卫星座位的等位基因数、位点杂合度、多态信息量、有效等位基因数

Table 3 The Allele numbers, heterozygosity (h), PIC (polymorphism information content), Ne (effective numbers of alleles) on 9 microsatellite loci

| 座位 Loci | 等位基因 Allele numbers | 位点杂合度 h | 多态信息量 PIC | 有效等位基因数 Ne |
|--------------|------------------------|------------|--------------|---------------|
| mung μ 1 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| mung μ 2 | 3 | 0.3490 | 0.3455 | 1.5362 |
| mung μ 3 | 4 | 0.6875 | 0.6743 | 3.2 |
| mung μ 4 | 4 | 0.6426 | 0.6351 | 2.7978 |
| mung μ 5 | 2 | 0.5 | 0.375 | 2 |
| mung μ 6 | 4 | 0.7222 | 0.7037 | 3.6 |
| mung μ 7 | 2 | 0.4938 | 0.3719 | 1.9756 |
| mung μ 8 | 2 | 0.32 | 0.2688 | 1.4706 |
| mung μ 9 | 2 | 0.5 | 0.375 | 2 |
| Average | 2.6 | 0.4684 | 0.4166 | 2.1756 |

2.3 Z:ZCLA 长爪沙鼠的基因纯合度

个体的基因纯合度实际代表个体的近交系数。

从本实验所取样本看, 基因纯合度最高达 0.5555, 最低为 0.1111, 全群平均值为 0.3389, 结果见表 4。

表 4 全群基因纯合度

Table 4 The individual gene homogeneity of Z:ZCLA Mongolian gerbil

| 鼠号 No. | 个体基因纯合度 Individual gene homogeneity | 鼠号 No. | 个体基因纯合度 Individual gene homogeneity |
|----------------------------------|--|-----------|--|
| 1 | 0.3333 | 11 | 0.4444 |
| 2 | 0.3333 | 12 | 0.3333 |
| 3 | 0.2222 | 13 | 0.4444 |
| 4 | 0.2222 | 14 | 0.4444 |
| 5 | 0.2222 | 15 | 0.4444 |
| 6 | 0.1111 | 16 | 0.4444 |
| 7 | 0.1111 | 17 | 0.4444 |
| 8 | 0.3333 | 18 | 0.5555 |
| 9 | 0.2222 | 19 | 0.4444 |
| 10 | 0.3333 | 20 | 0.3333 |
| 平均基因纯合度 Average gene homogeneity | | 0.3389 | |

3 讨论

近年来国内关于啮齿类实验动物微卫星研究的报道主要集中在遗传质控方面。张树辉等 (2000) 曾用 42 个微卫星标记对 9 种近交系小鼠进行多态性研究, 得出某些微卫星标记可用作常规检测小鼠品系的来源和遗传背景。吴宝金等 (2003) 用 39 个覆盖小鼠 19 条染色体的微卫星标记对 6 种品系

的小鼠进行遗传检测和遗传概貌评价, 结果发现国内某个 ICR 封闭群的近交系数过高, 已不符合封闭群特征。李瑞生等 (2001) 在国内首先用 10 个微卫星标记研究了 6 种品系的近交系大鼠的多态性, 结果发现 9 个微卫星座位具有多态性, 不同品系的个体之间具有多态性, 不同地区的同一品系之间也存在一定差异, 据此得出微卫星可以用作区分近交系与杂交系、品系与品系、品系与亚系。谢建云等

(2003) 用 34 对微卫星引物对 10 个品系的近交系小鼠进行遗传检测, 并首次成功地摸索出用二重 PCR 检测近交系小鼠遗传质量的工作条件。陈振文等 (2004)* 用 14 个微卫星标记对国内 11 个 BALB/c 小鼠群体进行遗传质量控制检测, 发现有 4 个群体在同一座位上出现遗传污染 (多态性)。

Neumann 等 (2001) 发现野生长爪沙鼠与欧美的实验长爪沙鼠在 9 个微卫星座位上存在较大差异。野生鼠在每个座位上都有 7 个以上的等位基因 (7~12 个), 平均杂合度为 0.761, 平均等位基因数为 9.2 个, 而实验鼠最多只有 3 个等位基因, 平均杂合度为 0.136, 平均等位基因数为 1.78 个。本实验样品来自 Z:ZCLA 封闭群, 等位基因 2~4 个, 平均杂合度为 0.4684, 平均等位基因数为 2.6 个。因平均杂合度与 PIC 有相同作用, 根据 Bostein 等

(1980) 提出衡量基因变异程度高低的多元信息量 (PIC) 指标, $PIC > 0.5$ 为高度多态, $0.25 < PIC < 0.5$ 时为中度多态, $PIC < 0.25$ 为低度多态, 所以据此认为 Z:ZCLA 长爪沙鼠在 $mung \mu 1$ 上属低度多态, 在 $mung \mu 2$ 、 $mung \mu 5$ 、 $mung \mu 7$ 、 $mung \mu 8$ 和 $mung \mu 9$ 上属中度多态, 在 $mung \mu 3$ 、 $mung \mu 4$ 和 $mung \mu 6$ 上属高度多态, 全群均值为 0.4684 属中度多态, 较 Neumann 等 (2001) 的实验群体高, 究其原因可能是 Z:ZCLA 长爪沙鼠封闭群的始祖的群体有效含量较高 (> 20 只, 因年代久远而造成原始资料缺失, 已无从考知具体数字), 而 Neumann 等 (2001) 研究中群体的始祖为 9 只 (这 9 只长爪沙鼠可追溯到 1954 年美国从日本引进的 22 只长爪沙鼠, 而日本的长爪沙鼠则为 1935 年从中国和蒙古捕捉的野生鼠)。

表 5 Z:ZCLA 长爪沙鼠与 Neumann 等 (2001) 长爪沙鼠的等位基因数的比较

Table 5 Comparisons among alleles of Z:ZCLA Mongolian gerbil, Neumann *et al.*, (2001) wild and Lab. Mongolian gerbil

| 座位 Loci | 等位基因 Allele | | |
|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | Neumann 野生鼠 | Neumann 实验鼠 | Z:ZCLA 实验鼠 |
| | Wild | Lab. | Z:ZCLA Lab. |
| $mung \mu 1$ | 10 | 1 | 1 |
| $mung \mu 2$ | 10 | 1 | 3 |
| $mung \mu 3$ | 8 | 1 | 4 |
| $mung \mu 4$ | 7 | 2 | 4 |
| $mung \mu 5$ | 12 | 2 | 2 |
| $mung \mu 6$ | 9 | 3 | 4 |
| $mung \mu 7$ | 9 | 3 | 2 |
| $mung \mu 8$ | 11 | 2 | 2 |
| $mung \mu 9$ | 7 | 1 | 2 |

据作者了解, 20 多年中, Z:ZCLA 普通级长爪沙鼠封闭群曾经历过大规模产业化 (产值曾达亿元)、培育近交系、部分个体实施剖腹产进行生物净化升为清洁级 (SPF 级) 封闭群等 3 次种群变动, 这 3 次变动造成了种群扩张和缩小, 从而有可能造成了该群体基因的选择、突变、迁移和遗传漂变等, 这也可能是目前普通级 Z:ZCLA 长爪沙鼠在 9 个微卫星座位上等位基因频率经 χ^2 检验均为差异极显著, 不符合 Hardy-weinberg 平衡的根本原因。另外, 基因进化的时序不同也是造成各微卫星座位的等位基因频率差异的原因之一。

对于封闭群实验动物, 遗传多样性一般是指品

种或品系内个体在 DNA 水平上的差异。Z:ZCLA 长爪沙鼠是浙江省实验动物中心自 1978 年对野生鼠进行封闭繁育, 并施以生物净化得来的, 现已传至 40 多代。利用微卫星标记分析其群体遗传结构, 在分子水平上对该群体进行遗传多样性研究, 可了解其遗传结构、生活背景, 分析其进化的历史和潜力, 探讨该封闭群是否近交、近交的原因和现状, 并提出合理的保种措施。

Z:ZCLA 长爪沙鼠有等位基因 1~4 个, 平均等位基因 2.6 个, 平均杂合度 0.4684, 多元信息量 0.4166, 全群基因纯合度 0.3389, 提示其目前遗传多样性处于中度多态。

* 陈振文, 欧阳兆和, 王承利. 2004. 用微卫星标记技术对国内 BALB/c 小鼠遗传质量的分析. 中国实验动物学会第六届学术年会论文集. 91-94.

致谢: 感谢施张奎、楼琦、马伟峰、周莎桑在本研究中给予的支持与方便。

参考文献:

- Botstein D, White R, Skolnik M, Davis R W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American journal of Human Genetics*, **32**: 314 - 331.
- Copeland N G, Jenkins N A, Gilbert D J, Eppig J T, Maltais L J, Miller J C, Dietrich W F, Weaver A, Lincoln S E, Steen R G, Stein L D, Nadeau J H, Lander E S. 1993. A genetic linkage map of the mouse: current application and future prospects. *Science*, **265** (5130): 57 - 66.
- Dietrich W F, Copeland N G, Gilbert D J, Miller J C, Jenkinst N A, Lander E S. 1995. Mapping the mouse genome: current status and future prospects. *Proc Natl Acad Sci USA*, **92** (24): 10849 - 10853.
- Edwards A, Hammond H A, Jin L, Caskey C T, Chakraborty R. 1992. Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups. *Genomics*, **12**: 241 - 253.
- Nei M, Roychoudhurg A K. 1974. Sampling variance of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, **76**: 379 - 390.
- Neumann K, Maak S, Stuermer I W, Von Lengerken G, Gatterman R. 2001. Low microsatellite variation in laboratory Gerbils. *J Hered*, **92** (1): 71 - 74.
- Queller D C, Strassmann J E, Hughes C R. 1993. Microsatellites and Kinship. *Trends Ecol Evol*, **8**: 285 - 288.
- Zhou zhonger, Liu yuehuan. 2000. An elementary research on enterotoxigenic *E. coli* F18 receptor genotype in pigs. *Animal Biotechnology Bulletin*, **7** (1): 107 - 108.
- 朱智勇, 姚顺荣, 付桂明, 翁景清. 1984. 长爪沙鼠是流行性出血热病毒敏感的实验动物. *微生物学报*, **24** (1): 92 - 5.
- 李瑞生, 陈振文, 宋德光, 任文陟, 栾蓉晖. 2001. PCR 扩增近交系大鼠微卫星 DNA 多态性的研究. *遗传*, **23** (6): 539 - 543.
- 吴宝金, 茅慧华, 朱洪, 阎志峰, 杨玲, 孙强, 徐向明, 薛整风, 李厚达. 2003. 小鼠 39 个微卫星的 PCR 条件及其运用. *中国实验动物学报*, **11** (4): 216 - 220.
- 张树辉, 魏泓, 史景泉. 2000. 近交系小鼠微卫星多态性的研究. *遗传*, **22** (6): 375 - 378.
- 徐宁迎, Thomsen H, Reinsch N, Looft C, Kalm E. 1999. 德国奶牛产奶性状的 QTL 研究. 第十次全国动物遗传育种学术讨论会论文集. 北京: 中国农业科技出版社, 343 - 346.
- 谢建云, 邵伟娟, 高诚. 2003. 多重 PCR 在几个近交系小鼠遗传检测中的应用初探. *中国实验动物学报*, **11** (2): 92 - 95.