

小家鼠和实验小鼠遗传特性的比较研究*

金玫蕾 鲍世民[✓] 张瑞忠 赵国际
何新桥 洪慕祁 张雅芳 施美莲

2957.537

(中国科学院上海实验动物中心, 上海, 200233)

摘 要

本文用同工酶电泳法、微量细胞毒法和免疫双向扩散法对我国4个动物地理区的6个采集点的156个小家鼠(*Mus musculus*)进行了遗传特性的调查。结果发现:在全部被测的13个位点中,小家鼠在7个位点上存在着多种实验小鼠中罕见的基因组成;而不同动物地理区和亚区的小家鼠的遗传特性又各不相同。从而指出将小家鼠的特有基因导入实验小鼠,培育新品系的重大意义。

关键词 小家鼠; 动物地理区; 基因频率 遗传性

实验小鼠是应用最广泛的实验动物之一,其祖先是小家鼠(*Mus musculus*)的亚种 *Mus musculus domesticus*,分布在西欧,南北美洲、非洲和大洋洲,这一点已被国际上不少学者的研究所证实(Moriwaki等,1985;米川博通等,1986;森胁和郎,1988)。而 *M. m. domesticus* 亚种的遗传特性又同其它亚种有较大的差异(Moriwaki等,1986)。因此实验小鼠的基因库并不是十分完全的。生命科学的发展需要越来越多的实验小鼠新品系和动物模型。我国地处亚洲,在7个动物地理区(郑作新等,1959)中广泛分布着小家鼠,而且各动物地理区的小家鼠在遗传特性上具有相当大的差异(Jin等,1989a),很可能包含着 *M. m. domesticus* 亚种以外的多个亚种。因此,将中国不同动物地理区的小家鼠与实验小鼠在遗传特性方面进行比较研究,以利于选择有特色的群体,将其基因导入现有的实验小鼠品系,是一项十分有意义的工作。

材料与方法

动物 本实验所用的小家鼠分别来自中国动物地理华中区西部山地高原亚区四川省的成都市和重庆市,华中区东部丘陵平原亚区的上海市,华南区海南岛亚区的琼山县、东北区大兴安岭亚区黑龙江省的漠河县和蒙新区西北荒漠亚区新疆维吾尔自治区的玛纳斯县。上述6地的小家鼠均已人工饲养繁殖成功,取F₀代和F₁代的个体用于实验,6地依次取23、22、24、15、42和30个,共156个个体。

样品 取小家鼠的血浆、溶血液、肾脏和胸腺进行实验,样品制备采用 Nomura等(1984),城石俊彦等(1980)和森胁和郎等(1988)的方法。

方法 用微量细胞毒法(城石俊彦等,1980)测定胸腺-1(Thy-1)位点的基因型;用

* 金玫蕾、鲍世民、张瑞忠、赵国际负责遗传学部分,何新桥、洪慕祁、张雅芳、施美莲负责动物学部分。工作中得到重庆市机械化施工公司、四川省委组织部招待所,中科院南海研究站及中科院上海实验动物中心等单位的有关同志帮助,一并致谢。

本文于1991年9月11日收到,1992年4月8日收到修改稿。

表 1 6个采集点的小家鼠的表型频率(%)

Table 1 The phenotype frequency of wild mice of 6 collection sites (%)

染色体序号 Chromosome No.	位点 Locus	表型 Pheno- type	东洋界 Oriental realm				古北界 Palaearctic realm	
			成 都 Che	重 庆 Cho	上 海 Sha	琼 山 Qio	漠 河 Moh	玛 纳 斯 Man
1	Akp-1	a	26.0	16.7				
		b	74.0	83.3	100	100	100	100
3	Car-2	a	65.2	4.5			28.6	80.0
		ab					69.0	6.7
8	Es-1	b	34.8	95.5	100	100	2.4	33.3
		a	100	100	100	100	42.9	82.8
8	Es-2	ab					4.8	
		b					52.3	17.2
11	Es-3	b	60.9	27.3	16.7		18.8	16.7
		bc			8.3		6.2	
4	Gpd-1	c	39.1	72.7	75.0	100	75.0	83.3
		a						3.3
7	Gpi-1	b	100	100	100	100	53.1	96.7
		bc					31.3	
7	Hbb	c					15.6	
		a		4.5			62.5	
2	Hc	b					3.1	
		c	82.6	95.5	100	100	31.3	100
1	Idh-1	ac					3.1	
		bc	17.4					
9	Thy-1	a	100	100	100	100	100	100
		d		72.7	4.2	100	100	3.4
9	Trf	p	100		50.0			83.3
		dp		27.3	45.8			13.3
9	Mod-1	f	100	100	100	100	100	100
		a	30.4	22.7	83.3	13.3		10.0
9	Thy-1	b	69.6				100	90.0
		ac		54.8	16.7	20.0		
9	Trf	bc				6.7		
		c		22.7		60.0		

注Note: Akp-1—碱性磷酸酯酶-1(Alkaline phosphatase-1); Car-2—碳酸酐酶-2(Carbonic anhydrase-2); Es-1—酯酶-1(Esterase-1); Es-2—酯酶-2(Esterase-2); Es-3—酯酶-3(Esterase-3); Gpd-1—葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1(6-Glucose phosphate dehydrogenase-1); Gpi-1—磷酸葡萄糖异构酶-1(Glucose phosphate isomerase-1); Hbb—血红蛋白β链(Hemoglobin beta-chain); Hc—溶血补体(Hemolytic complement); Idh-1—异枸橼酸脱氢酶-1(Isocitrate dehydrogenase-1); Mod-1—苹果酸酶上清液-1(Malic enzyme, supernatant-1); Thy-1—胸腺抗原-1(Thymus antigen-1); Trf—铁传递蛋白(Transferrin).

Che—Chengdu; Cho—Chongqing; Sha—Shanghai; Qio—Qiongsan; Moh—Mohe; Man—Manasi

免疫双向扩散法(森胁和郎等, 1988)测定溶血补体(Hc)位点的基因型, 其他位点的表型用同工酶电泳法(Nomura等, 1984)测定。

实验中全部采用日本国海力拉研究所出品的醋酸纤维板(TITAN III)作支持物, 主要仪器为江苏省丹阳无线电一厂生产的SCR-6型稳流稳压电泳仪, 日本国日立公司生产的SCR20BA型高速离心机, 美国AO公司生产的120型多功能显微镜。

结 果

6地小家鼠在13个位点上的表型频率和基因频率见表1和表2。其中属于古北界的漠河和玛纳斯的小家鼠同以前的研究结果并无大的差异(Jin等, 1989a)。两地小家鼠的遗传特性在酯酶-3(Es-3)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1(Gpd-1)和血红蛋白 β -链(Hbb)位点上有较显著的不一致, 显示了不同动物地理区的小家鼠之间的区别。

表 2 6个采集点的小家鼠的基因频率

Table 2 The gene frequency of wild mice of 6 collection sites

染色体序号 Chromosome No.	位点 Locus	等位基因 Allele	东洋界Oriental realm				古北界 Palaearctic realm	
			成 都 Che	重 庆 Cho	上 海 Sha	琼 山 Qio	漠 河 Moh	玛 纳 斯 Man
1	Akp-1	a	0.26	0.17				
		b	0.74	0.83	1.00	1.00	1.00	1.00
3	Car-2	a	0.65	0.05			0.30	0.63
		b	0.35	0.95	1.00	1.00	0.70	0.37
6	Es-1	a	1.00	1.00	1.00	1.00	0.45	0.83
		b					0.55	0.17
8	Es-2	b	0.81	0.27	0.21		0.22	0.17
		c	0.39	0.73	0.79	1.00	0.78	0.83
11	Es-3	a						0.03
		b	1.00	1.00	1.00	1.00	0.60	0.87
		c					0.31	
4	Gpd-1	a		0.05			0.64	
		b	0.09				0.03	
		c	0.91	0.95	1.00	1.00	0.33	1.00
7	Gpi-1	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
7	Hbb	d		0.88	0.27	1.00	1.00	0.10
		p	1.00	0.14	0.73			0.90
2	Hc	1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
1	Idh-1	a	0.30	0.50	0.92	0.23		0.10
		b	0.70			0.03	1.00	0.90
		c		0.50	0.08	0.74		
9	Mod-1	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
9	Thy-1	a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
9	Trf	b	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

注Note: Akp-1—碱性磷酸酯酶-1(Alkaline phosphatase-1); Car-2—碳酸酐酶-2(Carbonic anhydrase-2); Es-1—酯酶-1(Esterase-1); Es-2—酯酶-2(Esterase-2); Es-3—酯酶-3(Esterase-3); Gpd-1—葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1(6-Glucose phosphate dehydrogenase-1); Gpi-1—磷酸葡萄糖异构酶-1(Glucose phosphate isomerase-1); Hbb—血红蛋白 β 链(Hemoglobin beta-chain); Hc—溶血补体(Hemolytic complement); Idh-1—异枸橼酸脱氢酶-1(Isocitrate dehydrogenase-1); Mod-1—苹果酸酶上清液-1(Malic enzyme, supernatant-1); Thy-1—胸腺抗原-1(Thymus antigen-1); Trf—铁传递蛋白(Transferrin)。

成都、重庆、上海和琼山的小家鼠属东洋界。前3地同属华中动物地理区, 但分属2个亚区; 在碱性磷酸酯酶-1(Akp-1)、碳酸酐酶-2(Car-2)和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1(Gpd-1)位点上, 上海的小家鼠遗传特性同成都, 重庆的小家鼠相比有一定差别。再与漠河和玛纳斯的小家鼠相比, 漠河和玛纳斯的小家鼠在酯酶-3(Es-3)位点上更具多态性, 而成都、重庆、上海和琼山的小家鼠则在异枸橼酸脱氢酶-1(Idh-1)位点上表现为多态型。

成都和重庆的小家鼠虽属同一个动物地理区的同一个亚区,但在血红蛋白- β 链(Hbb)和异构柠檬酸脱氢酶-1(Idh-1)位点上还有一定的区别。成都的小家鼠以Hbb^a为唯一的表型,而重庆的小家鼠却存在有相当多的d基因;在异构柠檬酸脱氢酶-1(Idh-1)位点上,成都小家鼠具有Idh-1^a和Idh-1^b表型,而重庆的小家鼠却只有a基因和c基因。琼山的小家鼠在异构柠檬酸脱氢酶-1(Idh-1)位点上具有4种多态型,且a基因频率高达0.74,而在其他位点上却全部表现为纯合型,上述3点充分显示了中国动物地理华南区小家鼠的特色。

表3是8个常见的实验小鼠品系的表型(森胁和郎等,1988)。同表1和表2相比

表3 8个实验小鼠品系的表型
Table 3 The phenotype of 8 strains of inbred mice

染色体序号 Chromosome No.	位点 Locus	品系 Strain							
		A	AKR	BALB/c	CBA	C ₃ H/He	C ₅₇ BL/6	DBA/1	DBA/2
1	Akp-1	b	b	b	a	b	a	a	a
3	Car-2	b	a	b	b	b	a	a	b
8	Es-1	b	b	b	b	b	a	b	b
8	Es-2	b	b	b	b	b	b	b	b
11	Es-3	c	c	a	c	c	a	c	c
4	Gpd-1	b	b	b	b	b	a	a	b
7	Gpi-1	a	a	a	b	b	b	a	a
7	Hbb	d	d	d	d	d	s	d	d
2	Hc	o	o	i	i	i	i	i	o
1	Idh-1	a	b	a	b	a	a	b	b
9	Mod-1	a	b	a	b	a	b	a	a
9	Thy-1	b	a	b	b	b	b	b	b
9	Trf	b	b	b	a	b	b	b	L

注Note, Akp-1—碱性磷酸酶-1(Alkaline phosphatase-1), Car-2—碳酸酐酶-2(Carbonic anhydrase-2), Es-1—酯酶-1(Esterase-1), Es-2—酯酶-2(Esterase-2), Es-3—酯酶-3(Esterase-3), Gpd-1—葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1(α -Glucose phosphate dehydrogenase-1), Gpi-1—磷酸葡萄糖异构酶-1(Glucose phosphate isomerase-1), Hbb—血红蛋白 β 链(Hemoglobin beta-chain), Hc—溶血补体(Hemolytic complement), Idh-1—异构柠檬酸脱氢酶-1(Isocitrate dehydrogenase-1), Mod-1—苹果酸酶上清液-1(Malic enzyme, supernatant-1), Thy-1—胸腺抗原-1(Thymus antigen-1), Trf—铁传递蛋白(Transferrin)。

较,可以看出,在酯酶-1(Es-1)位点上,漠河和玛纳斯的小家鼠有相当一部分a基因,成都、重庆、上海和琼山的小家鼠则是全部为a基因,而常用实验小鼠品系中除C57BL/6品系之外,其余均为b基因;在酯酶-2(Es-2)位点上,在6地小家鼠中占据很大部分的c基因,在8个常见实验小鼠品系中则根本没有;在酯酶-3(Es-3)位点上,实验小鼠品系中几乎没有的b基因,而在6地小家鼠中确占了绝大部分或全部;在实验小鼠品系中罕见的Gpd-1^a型,在6地小家鼠中的分布又十分广泛;成都、上海和玛纳斯的小家鼠中的Hbb^a型,更是野生小鼠所特有的(图1);此外,异构柠檬酸脱氢酶-1(Idh-1)位点上的c基因,在重庆、上海和琼山的小家鼠中有所表现,但在常见的实验小鼠品系中却是难以发现的;至于Thy-1^a型,也是野生小鼠的标记基因,常见实验小鼠品系中只有AKR品系具有这种基因型。

综上所述,在全部被测试的13个位点中,小家鼠在7个位点上具有较特殊的基因组成。这对于进一步培育实验小鼠新品系和扩大其基因库,无疑是一笔宝贵的财富。

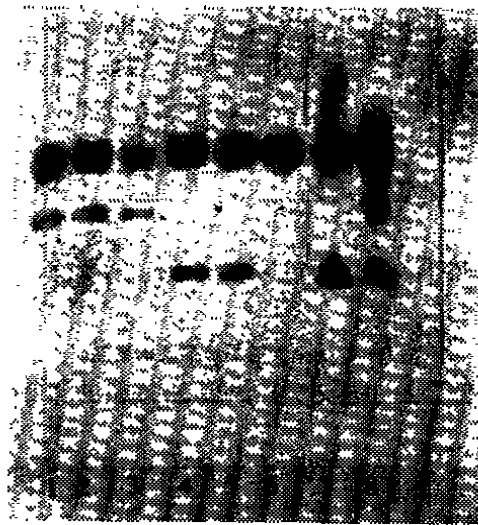


图 1 小家鼠中血红蛋白 β 链(Hbb)的多态型

Fig.1 Polymorphisms of Hbb in *Mus musculus*

No.3: 对照DBA/2J品系(Hbb^d); No.6: 对照C57BL/6N品系(Hbb^s); No.1: 琼山小家鼠(Hbb^d); No.2: 重庆小家鼠(Hbb^d); No.4,5: 成都小家鼠(Hbb^p); No.7: 上海小家鼠(Hbb^p); No.8: 上海小家鼠(Hbb^d).

No.3: Control DBA/2J(Hbb^d); No.6: Control C57BL/6N(Hbb^s); No.1: Qionshan Mouse(Hbb^d); No.2: Chongqing mouse(Hbb^d); No.4,5: Chengdu mouse(Hbb^p); No.7: Shanghai mouse(Hbb^p); No.8: Shanghai mouse(Hbb^d).

讨 论

1. 自Little 1909年在世界上首次用兄妹近亲交配法育成近交系小鼠以来(江崎孝三郎, 1984), 现已育成了数百个近交系小鼠品系。由于近交系小鼠具有基因型高度纯合, 品系内个体差异极小, 品系间又有明显区别的特征等优点, 已成为很多科学研究中不可缺少的生命试剂。但现有的近交系仍然不能满足日新月异发展着的生命科学研究的需要。因此, 通过杂交或转基因等手段, 将小家鼠的特色基因导入实验小鼠, 创造出前所未有的新品系, 或者培育出仅在某一特定位置上的基因型不同, 而其它遗传背景均一致的多组同类系(前岛一淑等, 1986), 对于生命科学的研究将是一项具有重大意义的工作。

2. 在众多的近交系被人重视的同时, 科学家们正越来越意识到远交群小鼠在科学研究中不可替代的位置(江崎孝三郎, 1984)。很多实验需要同一个小鼠群体在各个基因位点上具有多态型。应该说, 小家鼠在自然环境中是遵循随机交配规律的, 而且在不同动物地理区的交界处, 很可能存在不同亚种的天然杂交群。因此, 小家鼠往往在多个位点上具有多态性。现有的远交群小鼠品系数量甚少, 且追溯来源还往往具有同一性(Jin 等, 1989b)。因此, 从小家鼠出发培育新的远交群, 或者将小家鼠在某些位点上的多态型导入现有的远交群, 都将有希望育成有价值的新品系。

3. 上海小家鼠采自上海市郊接合部的民舍, 且靠近实验动物设施, 曾疑为从动物设施内逃脱的实验小鼠与野生小家鼠多次杂交而成的群体。然而经分析实验结果: 在酯酶-2(Es-2)位点上, 该群体大部分为实验小鼠中罕见的c基因; 在酯酶-3(Es-3)和葡萄糖

-6-磷酸脱氢酶-1(Gpd-1)位点上,该群体全部表现为实验小鼠中几乎没有的b型和c型,其胸腺-1(Thy-1)位点上全部表现为小家鼠特有的a型,血红蛋白- β 链(Hbb⁺)位点上小家鼠的标记P基因占了绝大多数,异构柠檬酸脱氢酶(Idh-1)位点上还表现有实验小鼠中罕见的ac型。如果该群体是与实验小鼠杂交后的结果,似不可能在多个位点上一致出现小家鼠特有的表型,而且其中大都以纯合子形式体现。由此可见,虽然在生物学的种的分类上,小家鼠与实验小鼠完全是同一个种,即 *Mus musculus*,但由于长期的隔离和分化,可能会在杂交上存在一定的难度,这是在进行小家鼠的实验动物化工作中需要引起注意的。

4. 从各地采集来的小家鼠,经实验和分析并非如想象中那样在每个位点上都具有多态性和杂合型。相反,在某些位点上,如碱性磷酸酯酶-1(Akp-1),酯酶-1(Es-1),酯酶-3(Es-3),磷酸葡萄糖异构酶-1(Gpi-1),溶血补体(Hc),苹果酸酶上清液-1(Mod-1),胸腺-1(Thy-1)和铁传递蛋白(Trf)中,某些群体还表现出高度的纯合性。尤其是琼山的小鼠,在全部被测的13个位点中,表现为纯合型的竟多达12个位点,是什么原因尚待进一步研究。我们初步以为这或许与长期的自然地理隔离有关,产生出一种缓慢的逐渐纯化的倾向。这样就更说明了现有的实验小鼠中如不及时补充外来的基因,长期封闭饲养后也将逐渐趋于退化(森胁和郎等,1988)。因此,将实验小鼠同小家鼠的不同亚种进行杂交和选择,从进化的角度来说也是科学的。

5. 对小家鼠和实验小鼠的遗传特性进行比较研究,还具有一定的实用意义。例如通过遗传监测可得知那些遗传质量降低了的品系是同其它实验小鼠品系还是同野生小家鼠发生了混杂,从而加强动物设施对野鼠的防御。甚至在战争时期,当用实验手段查清携带细菌的鼠类是实验小鼠的哪个品系或是野生小鼠的哪个亚种时,可望分析出其来源的国家和地区。因此,这一研究一定会日益引起不仅是生命科学研究者而且是更广泛的人们的注意和重视。

参 考 文 献

- 郑作新、张荣祖 1958 中国动物地理区划与中国昆虫地理区划, 2—3页, 科学出版社。
- 米川博通、森胁和郎 1986 实验用マウスの过去と未来。蛋白質核酸酵素, Vol.31, No.12, 115—1170。
- 江崎孝三郎 1984 动物实验成績の再現性と遺伝的コントロール—交雑群の利用—。日本クレアニュース, 2—21。
- 前岛一淑、江崎孝三郎、筱田元扶、山内忠平、光岡知足、菅野 茂、辻 繁胜、土井邦雄 1986 新实验动物学。朝仓书店, 23—25。
- 城石俊彦、磯崎井知子、森胁和郎 1989 平板型マイクロタイトレーミヨンプレートによる Microcytotoxicity test。免疫実験操作法Ⅱ, 2771—2782。
- 森胁和郎 1988 ハツカネズミ亜種の遺伝的分化。哺乳类科学28(1):91—103。
- 森胁和郎、D.W.ベ伊利 1988 マウス免疫遺伝学—技法—を展开。179—186, 260—270ソフトサイエンス社, 东京。
- Jin Meilei, Bao Shimin, Zhang Ruishong, Zhao Guoji, He Xinqiao, Hong Muqi, Zhang Yafang and Fang Lin 1989a The genetic characteristics of *Mus musculus* in three zoogeographical regions in China. SISLAS 89' Symp., Shanghai 1989, p7.
- Jin Meilei, Bao Shimin, Zhao Guoji and Zhang Ruizhong 1989b Comparative studied on the genetic character of three colonies of outbred mice. SISLAS 89' Symp., Shanghai 1989, p10.
- Moriwaki Kazuo, Miyashita Nobumoto and Yonekawa Hiromichi 1985 Genetic survey of the origin of laboratory mice and its implication in genetic monitoring, 8th. ICLAS/CALAS Symp., Vancouver 1983, p237—247, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Moriwaki Kazuo, Miyashita Nobumoto and Suzuki Hitoshi 1986 Genetic features of major geographical isolates of *Mus musculus*, current topics in microbiology and immunology.

Vol.127, "Wild Mouse in Immunology", (Potter, M., ed.) Springer-Verlag, Berlin, p55—61.
 Nomura Tatsuji, Esaki Kozaburo and Tomita Takeshi 1984 ICLAS Manual for genetic monitoring of inbred mice. p38—76, University of Tokyo Press.

Abstract

COMPARATIVE STUDIES ON THE GENETIC CHARACTER OF *Mus musculus* AND LABORATORY MOUSE

JIN Meilei BAO Shimin ZHANG Ruizhong ZHAO Guoji
 HE Xinqiao HONG Muqi ZHANG Yafang SHI Meilian
 (Shanghai Laboratory Animal Center Academia Sinica, 200233)

Using biochemical markers, microcytotoxicity test and Ouchterlony methods, the genetic character of 156 wild mice (*Mus musculus*) from 6 sites in 4 zoogeographical regions of China were investigated, and comparison with 8 strains of laboratory mouse were studied by authors.

The results showed in 13 tested loci, there are some characteristic genes in 7 loci of *Mus musculus* which are rare in laboratory mouse. The genetic character of *Mus musculus* from different zoogeographical regions and subregions were also different. The importance of introducing the characteristic genes of *Mus musculus* into laboratory mouse and breeding new strains was indicated. The effect of *Mus musculus* when breeding inbred and outbred strains, the difficulties of producing laboratory mouse from *Mus musculus*, the reasons and countermeasures for homozygosity in some loci of *Mus musculus*, the theoretical significance and practical significance of comparative study on the genetic character of *Mus musculus* and laboratory mouse were discussed.

Key words *Mus musculus*; Zoogeographical regions; Gene frequency

高耀亭同志逝世

国家南极研究学术委员会委员、国际自然和自然资源保护联盟濒危动物专家组(IUCN/SSC) 鼬类和灵猫类专家组成员、中国野生动物保护协会科技委员会委员、中国动物学会兽类学分会理事暨第1届理事会副秘书长、《兽类学报》常务编委、中国科学院动物研究所研究员, 我国知名兽类学家高耀亭同志, 因心脏病突发, 经抢救无效, 于1992年1月22日10时40分在北京不幸逝世, 享年60岁。

高耀亭同志毕生致力于中国兽类科学研究事业, 一直工作到生命最后一刻。他一向关心我国动物科学的发展, 关心和帮助青年科技人员的成长, 为我国兽类学研究工作做出了突出贡献, 他的逝世是我国兽类学界的一大损失。

本刊编辑部