



应用微卫星 DNA 标记对广西食蟹猴的遗传学研究*

张洁宏 覃辉艳 李彬 杨慧 王芳 陈华凤

(广西壮族自治区疾病预防控制中心, 南宁 530028)

摘要:目的 对广西食蟹猴不同生产繁殖群进行遗传检测,分析广西不同繁殖群食蟹猴的遗传背景,为建立广西食蟹猴遗传质量检测方法和种群资源库提供基础资料。**方法** 应用 20 个微卫星基因位点和毛细管电泳技术对广西 3 个不同生产群食蟹猴进行遗传检测,并计算群体内和群体间的遗传变异参数。**结果** 共检测到等位基因 237 个,其观察等位基因数(N_a)为 5~19 个,平均 11.85 个;平均期望杂合度(H_e)为 0.85;平均多态信息含量(PIC)为 0.817。3 个不同生产群(F、N 和 W)分别检测到等位基因 158、158 和 173 个,平均期望杂合度(H_e)分别为 0.8371、0.8318 和 0.8642;平均多态信息含量(PIC)分别为 0.7692、0.7653 和 0.8001,3 个不同生产群存在较高的遗传多态性。3 个生产群 Hardy-Weinberg 平衡检验多数位点处于 H-W 平衡。群内近交系数 F_{is} 均值为 0.0235,总群体近交系数 F_{it} 均值为 0.0628,遗传分化系数 F_{st} 均值为 0.0402,基因流 N_m 均值为 5.9616,表明 3 个生产群基本处于随机交配状态,群体间遗传分化很小。3 个生产群遗传距离为 0.2556~0.3223,遗传相似度为 0.7245~0.7745,聚类分析显示 F 群体和 N 群体先聚为一类,再和 W 群体聚为一类,符合 3 个繁殖猴场各自关联引种历史特征。**结论** 本研究有效分析了广西食蟹猴的遗传多态性和群体间的遗传关系,所选的 20 个微卫星基因位点可用于食蟹猴遗传质量检测。

关键词:食蟹猴;微卫星 DNA 标记;遗传检测

中图分类号: Q789 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)03-0063-07

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.03.012

食蟹猴又称长尾猴,属于猴科,猕猴亚科,猕猴属,食蟹猴种,因其喜欢在退潮后到海边觅食螃蟹及贝类而得名,主要分布在亚洲东南部老挝、越南、印度尼西亚、马来西亚等国家地区,国内主要为人工饲养种群。因其体型较小,适应性强,容易驯养繁殖,在生物进化上与人类的遗传物质有 98.5% 的同源性,组织结构,生理代谢等与人类较接近,在生物学、心理学、医学等多种生命科学研究中有着其他实验动物无法替代的重要地位^[1]。特别是在心脑血管疾病、神经系统疾病、生殖系统疾病、内分泌系统疾病、艾滋病、结核等恶性传染病、器官移植等研究中食蟹猴有着极高的应用价值^[2-3]。目前,食蟹猴已成为生命科学研究最常用的大型实验动物之一,我国也是全世界作为实验动物使用和出口食蟹猴最多的国家,检测食蟹猴遗传质量,建立遗传背景清楚的

食蟹猴种群,提供标准化的实验食蟹猴,将有力保障研究结果的准确性、科学性和有效性。但目前我国食蟹猴遗传背景研究较少。因此,本研究应用 20 个微卫星位点对广西食蟹猴进行遗传检测,探讨广西食蟹猴的遗传背景,并为建立广西食蟹猴遗传质量检测方法和种群资源库提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取广西 3 家最大最具有代表性的食蟹猴养殖公司(以下分别简称为 F、N 和 W)进行无关个体随机采样,共采样成年食蟹猴 30 只,每个公司各 10 只,雌雄各半,年龄为 3~4 岁,体质量为 3~4 kg, F、N 和 W 3 家食蟹猴养殖公司目前的种猴数量均为 4

收稿日期:2018-10-17

* 基金项目:广西科学研究与技术开发计划(桂科能 1598025-25)

作者简介:张洁宏与覃辉艳为共同第一作者

张洁宏(1969—),男,主任技师,主要从事实验动物质量检测工作.E-mail:Zhjh510@126.com

覃辉艳(1981—),女,副主任技师,主要从事实验动物质量检测工作.E-mail:qinhuiyan123@sina.com

千只左右,总存栏猴数量均为 1~1.2 万只,为避免选择的个体相互间存在父子、母子、同胞关系,本研究根据养殖公司给定的记录谱系,从育成待发猴群的不同栏舍进行无关个体随机抽样,空腹自上肢静脉抽取全血 2 mL,EDTA 抗凝。

1.2 主要仪器与试剂

仪器:Sigma 高速冷冻离心机、Bio-Rad 电泳仪、UVP GelDoc-It² 凝胶成像分析仪、ABI 梯度 PCR 仪、ABI 3730XL 测序仪等。

试剂:Qiagen DNeasy Blood & Tissue Kit 核酸提取试剂盒、Takara Premix Ex TaqTM Hot Start Version PCR 反应试剂盒等。

1.3 实验方法

1.3.1 核酸样品制备:全血样品使用 Qiagen 公司货号为 69504 的试剂盒 DNeasy Blood & Tissue Kit (50) 提取核酸。核酸提取后采用 ND-1000 紫外分光光度计分析提取核酸的纯度和浓度。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 样品是否含有主带。

1.3.2 微卫星位点选取与引物合成:根据文献^[1,4-8]和 GenBank 数据库提供的信息,选择等位基因数、多态性含量丰富、尽可能分布于多条不同染色体的 20 个微卫星位点,其中位点 D1S533、D10S611、D2S146、D3S1768、D3S3045、D4S1645、D5S1466、D6S311、D8S1106、D9S934、D11S1352、D12S67、D13S797、D15S644、D18S536、DXS6810 选取于文献 1~6,位点 D12S375、D16S409、D17S800、D22S419 选取于 GenBank 数据库。20 个微卫星位点序列均在 GenBank 数据库查找。各位点引物使用 FAM 标记,由华大基因合成。引物编号和序列见表 1。

1.3.3 PCR 反应:PCR 反应体系为:Premix Ex Taq Hot Start Version 10 μ L、模板 1 μ L、10 μ mol/L 正向引物 0.5 μ L、10 μ mol/L 反向引物 0.5 μ L、无酶水补足至 20 μ L。扩增程序为:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min、94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,最佳退火温度(见表 1) 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,循环 30 次,72 $^{\circ}$ C 保持 10 min。

1.3.5 毛细管电泳:将甲酰胺与分子量内标按 100:1 的体积比混匀后,取 9 μ L 加入上样板中,再加入 1 μ L 稀释 10 倍的 PCR 产物,使用 ABI 3730XL 测序仪进行毛细管电泳。利用 Genemarker 中的 Fragment(Plant) 片段分析软件对测序仪得到的原始数据进行分析,将各泳道内分子量内标的位置与各样品峰值的位置做比较分析,得到片段大小。

表 1 20 个食蟹猴微卫星位点的扩增条件和染色体分布

Table 1 Amplifying condition and chromosome distribution of 20 microsatellite DNA loci in *Macaca fascicularis*

基因位点 Locus	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	染色体 Chromosome	退火温度 Temp/ $^{\circ}$ C
D1S533	CATCCCCCAAAAAATATA TTGCTAATCAAATAACAATGGG	1	55
D3S3045	ACCAAATGAGACAGTGGCAT ATGAGGACGGTTGACATCTG	2	56
D3S1768	GGTGCTGCCAAAGATTAGA CACTGTGATTTGCTGTTGGA	3	61
D6S311	ATGTCCTCATTGGTGTGTGTG GATTGAGACCCAGGAAGAT	4	58
D4S1645	CAACTTCTCAATAAATTTGGC CAGACACTGTCTGTTGTGG	5	56
D5S1466	GTATCAGAACCTCATGTTGTACACC GGCACCTAGGTTTGTCTGA	6	54
D15S644	CCTTCATTGGCAGACTCACT GCAGACACCAAGATGATAACG	7	55
D8S1106	TTGTTTACCCTGCATCACT TTCTCAGAATGTCTCATAGTGC	8	61
D10S611	CATACAGGAACTGTGTAGTGC CTGTATTTATGTGTGTGGATGG	9	51
D22S419	GGCTCAGGACTCTGGA GGCCAATCGGTAGGTCA	10	58
D12S375	TTGTTGAGGCTCTTTCTCCA TCTTCTATTTGGAAAAGTAACCC	11	55
D12S67	GCAACAGTTTATGCTAAAGC GCCTATGCAGTTCAAATCTA	12	52
D2S146	TCATCCTTACTCTAAGCAAAGATCC CACCACATTTCAAATGCCTCC	13	58
D11S1352	CGGTGAGTTTTTTGTCC ATATCCTTCATATCCTGAATCTCTG	14	58
D9S934	TTTCCTAGTAGCTCAAGTAAAGAGG AGACTTGGACTGAATTACACTGC	15	60
D17S800	GGTCTCATCCATCAGGTTTT ATAGACTGTGTACTGGCATTGA	16	55
D13S797	GGTGCTGCGCATCTGTATT TGCTCGGAGGCTTTTCAGTC	17	56
D18S536	ATTATCACTGGTGTAGTCTCTG CACAGTTGTGTGAGCCAGTC	18	51
D16S409	TGAATCTTACATCCCATCCC AGTCAGTCTGCCAGAGGTG	20	58
DXS6810	ACAGAAAACCTTTTGGGACC CCCAGCCTGAATATTATCA	X	58

1.4 统计方法

采用 POPGENE32 和 NTSYS 软件对样品进行遗传多样性分析。计算各引物的等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、香隆信息指数、Nei's 基因多样性以及多态信息含量等群体内的遗传变异和遗传距离、遗传相似系数、F-统计量、

基因流等群体间遗传关系。

2 结果

2.1 20 个微卫星位点片段大小

30 个样品 20 个检测位点毛细管电泳片段大小范围见表 2。

2.2 群体遗传多态性分析

由表 3 可见,30 个样本共检测到等位基因 237 个,其观察等位基因数 N_a 为 5~19 个,平均为 11.85 个,其中最多的位点是 D12S67,高达 19 个,最少的位点是 D18S536,有 5 个等位基因。有效等位基因数 N_e 为 3.2374~12.3288 个,平均为 6.9473 个;观察杂合度 H_o 为 0.3~1,平均为 0.7833,期望杂合度 H_e 为 0.8508~0.9345,平均为 0.85,平均期望杂合度 H_e 略高于平均观察杂合度 H_o ;Nei's 基因多样性 H 为 0.6911~0.9189,平均为 0.8358;香隆信息指数 I 为 1.3914~2.7085,平均为 2.0954;多态信息含量 PIC 为 0.6609~0.9135,平均为 0.817,均大于 0.5;表明广西食蟹猴总群体在微卫星水平上表现出较高的遗传多态性。分别对 3 个群体进行遗传多态性分析(见表 4),3 个群体(F、N 和 W)分别检测到等位基因 158、158 和 173 个,平均期望杂合度 H_e 分

表 2 20 个微卫星 DNA 检测位点片段大小

Table 2 DNA fragment size of 20 microsatellite DNA loci

基因位点 Locus	染色体 Chromosome	片段大小/bp size
D1S533	1	182~253
D10S611	9	168~222
D2S146	13	191~217
D3S1768	3	184~242
D3S3045	2	175~219
D4S1645	5	251~303
D5S1466	6	278~320
D6S311	4	208~250
D8S1106	8	130~160
D9S934	15	178~224
D11S1352	14	215~248
D12S67	12	121~231
D12S375	11	164~189
D13S797	17	178~206
D15S644	7	184~258
D16S409	20	120~140
D17S800	16	160~198
D18S536	18	146~159
D22S419	10	255~281
DXS6810	x	169~197

别为 0.8371、0.8318 和 0.8642;平均多态信息含量 PIC 分别为 0.7692、0.7653 和 0.8001,3 个群体亦存在较高的遗传多态性。

表 3 30 个样品 20 个微卫星位点遗传多态性检测结果

Table 3 Genetic polymorphism measured at 20 microsatellite loci in 30 samples

基因位点 Locus	观察等位 基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	香隆信息 指数 I	观察杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	Nei's 基因 多样性 H	多态信息含量 PIC
D1S533	15	7.7922	2.3692	0.8667	0.8864	0.8717	0.8620
D10S611	13	8.4906	2.3113	0.8333	0.8972	0.8822	0.8714
D2S146	14	9.3750	2.4169	0.7333	0.9085	0.8933	0.8841
D3S1768	15	9.9448	2.4757	0.9667	0.9147	0.8994	0.8915
D3S3045	16	8.2569	2.3772	1.0000	0.8938	0.8789	0.8679
D4S1645	14	6.1224	2.1590	0.8000	0.8508	0.8367	0.8204
D5S1466	11	6.6421	2.0932	0.9667	0.8638	0.8494	0.8333
D6S311	14	7.4380	2.2852	0.8000	0.8802	0.8656	0.8536
D8S1106	9	7.3171	2.0679	0.7000	0.8780	0.8633	0.8479
D9S934	9	5.5385	1.8993	0.8333	0.8333	0.8194	0.7967
D11S1352	13	9.0909	2.3740	0.9000	0.9051	0.8900	0.8807
D12S67	19	12.3288	2.7085	0.9333	0.9345	0.9189	0.9135
D12S375	7	3.4091	1.4612	0.6333	0.7186	0.7067	0.6609
D13S797	10	3.2374	1.6089	0.7000	0.7028	0.6911	0.6674
D15S644	14	8.6538	2.3331	0.8333	0.8994	0.8844	0.8735
D16S409	9	4.2353	1.6793	0.7667	0.7768	0.7639	0.7294
D17S800	14	6.3158	2.215	0.8000	0.8559	0.8417	0.8293
D18S536	5	3.5785	1.3914	0.6000	0.7328	0.7206	0.6731
D22S419	8	5.0562	1.7857	0.7000	0.8158	0.8022	0.7773
DXS6810	8	6.1224	1.8954	0.3000	0.8508	0.8367	0.8155
Mean	11.85	6.9473	2.0954	0.7833	0.8500	0.8358	0.8170

表 4 3 个群体遗传多态性检测结果

Table 4 Genetic polymorphism in 3 groups

群体	平均观察等位 基因数 Na	平均有效等位 基因数 Ne	平均香隆信息 指数 I	平均观察 杂合度 Ho	平均期望杂 合度 He	平均 Nei's 基因 多样性 H	平均多态信 息含量 PIC
F	7.90	5.2913	1.8081	0.8000	0.8371	0.7952	0.7692
N	7.90	5.4833	1.8073	0.7650	0.8318	0.7902	0.7653
W	8.65	6.1483	1.9333	0.7850	0.8642	0.8210	0.8001

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检测

Hardy-Weinberg 平衡检测结果表明(见表 5), 多数位点处于 H-W 平衡, 只有 F 群体在位点 D6S311、DXS6810 上, N 群体在位点 D13S797、DXS6810 上, W 群体在位点 D1S533、D9S934、D22S419 上存在不平衡, $P < 0.05$ 。

表 5 Hardy-Weinberg 平衡检测结果

Table 5 Result of Hardy-Weinberg equilibrium

基因位点	F	N	W
D1S533	0.903377	0.752751	0.000001
D10S611	0.792705	0.139474	0.579454
D2S146	0.212060	0.407048	0.986612
D3S1768	0.268277	0.831254	0.132370
D3S3045	0.980810	0.946567	0.819639
D4S1645	0.878646	0.108238	0.912992
D5S1466	0.969303	0.994836	0.778743
D6S311	0.029447	0.993789	0.912852
D8S1106	0.090710	0.482902	0.311840
D9S934	0.943579	0.217280	0.013699
D11S1352	0.742654	0.316495	0.136463
D12S67	0.547980	0.944297	0.198845
D12S375	0.956015	0.958273	0.072630
D13S797	0.974022	0.027371	0.246763
D15S644	0.540312	0.056310	0.418932
D16S409	0.898896	0.917553	0.053780
D17S800	0.629342	0.284919	0.946755
D18S536	0.278820	0.785314	0.347983
D22S419	0.568866	0.947878	0.005625
DXS6810	0.000050	0.000001	0.761166

2.4 遗传距离和遗传相似系数

表 6 星号上方是遗传相似系数, 下方是遗传距离。由表 6 可见, 3 个群体遗传距离变化范围为 0.2556~0.3223, 遗传相似度范围为 72.45%~77.45%。

表 6 Nei's 遗传距离和遗传相似系数检测结果

Table 6 Nei's unbiased measures of genetic distance and genetic identity

群体	F	N	W
F	***	0.7745	0.7378
N	0.2556	***	0.7245
W	0.3041	0.3223	***

2.5 聚类分析

利用 Nei's 遗传距离进行 UPGMA 聚类分析,

得到 2 大类, 结果见图 1。F 群体和 N 群体先聚为一类, 再和 W 群体聚为一类。

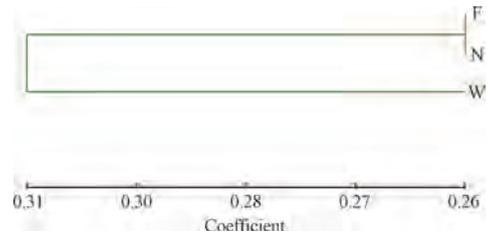


图 1 基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类图

Fig.1 UPGMA dendrogram based on Nei's genetic distance

2.6 F-统计量和基因流

由表 7 可见, F_{is} 均值为 0.0235, F_{it} 均值为 0.0628, 表明群体受近亲交配和人工选择影响小。 F_{st} 均值为 0.0402, N_m 均值为 5.9616, 表明群体间遗传分化小。

表 7 F-统计量和基因流检测结果

Table 7 Result of F-statistics and gene flow

基因位点 Locus	群内近交系数 Fis	总群体近交系数 Fit	遗传分化系数 Fst	基因流 Nm
D1S533	-0.0297	0.0057	0.0344	7.0139
D10S611	0.0119	0.0554	0.0441	5.4214
D2S146	0.1252	0.1791	0.0616	3.8106
D3S1768	-0.1006	-0.0747	0.0235	10.4013
D3S3045	-0.1605	-0.1378	0.0196	12.5081
D4S1645	0.0264	0.0438	0.0179	13.6944
D5S1466	-0.1861	-0.1380	0.0405	5.9153
D6S311	0.0419	0.0757	0.0353	6.8318
D8S1106	0.1429	0.1892	0.0541	4.3750
D9S934	-0.0526	-0.0169	0.0339	7.1250
D11S1352	-0.0465	-0.0112	0.0337	7.1667
D12S67	-0.0646	-0.0157	0.0459	5.1908
D12S375	0.0865	0.1038	0.0189	13.000
D13S797	-0.0606	-0.0129	0.0450	5.3036
D15S644	-0.0040	0.0578	0.0616	3.8112
D16S409	-0.0502	-0.0036	0.0444	5.3852
D17S800	0.0144	0.0495	0.0356	6.7639
D18S536	0.1262	0.1673	0.0470	5.0656
D22S419	0.0948	0.1274	0.0360	6.6923
DXS6810	0.6146	0.6414	0.0697	3.3357
Mean	0.0235	0.0628	0.0402	5.9616

3 讨论

实验动物遗传质量检测是评价实验动物质量的一个重要手段,其目的是为了确定被检动物是否符合该品系或种群的生物学特性以及检测该种群动物的近交程度等。随着生物技术的发展,现遗传标记研究主要集中在 DNA 分子水平上。微卫星是由 2~6 个核苷酸的串联重复片段构成的 DNA 序列,因其具有分布广泛、多态性丰富、易于检测、结果稳定可靠等特点,现已被广泛应用于亲缘关系鉴定、人类疾病诊断、实验动物遗传质量检测、生物群体遗传多样性遗传结构与物种资源保护等多领域^[9]。2007 年 Kikuchi 等^[10]从人类基因库中选取 148 个微卫星位点首次研究报道了食蟹猴的微卫星标记。近年来, Nikzad 等^[11]应用 18 个微卫星位点评估了马来西亚 6 个岛屿野生食蟹猴的遗传多样性和种群结构,结果显示总群体平均观察杂合度为 0.497,平均期望杂合度为 0.803, Sunggala 和 Penang 岛食蟹猴群体具有较高的遗传多样性,马来西亚食蟹猴遗传距离和地理位置之间没有较大关联。Smith 等^[12]应用 15 个微卫星位点比较分析了菲律宾食蟹猴与印度尼西亚、新加坡、毛里求斯、柬埔寨食蟹猴的遗传特性,菲律宾、毛里求斯食蟹猴遗传多样性较印度尼西亚、新加坡和柬埔寨低,群体间存在较大遗传分化。国内李瑞生等^[1]、刘欢^[8]分别应用 20 个微卫星位点、18 个微卫星位点有效分析了国内食蟹猴群体的遗传多样性,国内饲养食蟹猴的遗传多样性高于东南亚地区。

本研究采用 20 个微卫星位点探讨广西食蟹猴的遗传质量,多个基因位点的遗传参数平均值是衡量群体遗传变异大小和群体遗传多样性常用的指标,其中多态信息含量 PIC 是反应微卫星位点多态性的理想指标,当 $PIC > 0.5$ 时,微卫星位点具有高度多态性。杂合度是衡量群体内遗传变异最直接和最有效的指标,其值越高群体的遗传多样性越丰富^[13]。本研究结果显示 20 个微卫星多态信息含量 PIC 均大于 0.5,为 0.6609~0.9135,平均为 0.817,表明 20 个微卫星位点均为高多态性位点,能较好地反应广西食蟹猴的遗传多样性,与文献^[1,4-8]报道的微卫星位点多态性相同。30 个样品 20 个微卫星位点观察等位基因数 N_a 为 5~19 个,平均观察等位基因数 N_a 为 11.85 个,平均有效等位基因数 N_e 为

6.9473 个,亦与文献^[1,4-8]检测到的观察等位基因数大致相同。总群体平均观察杂合度 H_o 为 0.7833,平均期望杂合度 H_e 为 0.85,且 Nei's 基因多样性 H 和香隆信息指数 I 均较高,表明广西食蟹猴猴群等位基因数多、杂合度大,遗传多样性丰富。分别对 3 个生产群(F、N 和 W)进行遗传多态性分析,3 个生产群杂合度 H 、多态信息含量 PIC、Nei's 基因多样性 H 和香隆信息指数 I 均较高,表明 3 个生产群亦存在较高的遗传多态性。3 个群体平均观察杂合度接近平均期望杂合度,Hardy—Weinberg 平衡检测每个生产群在 2~3 个位点处于不平衡外,多数位点处于 H-W 平衡, F —统计量 F_{is} 均值和 F_{it} 均值均较低,表明各群体受人工选择和近亲交配影响小,基本处于随机交配状态,3 家养殖公司开展的遗传繁育方式较合理。种群的基因多样性与群体来源的复杂程度、群体大小及繁育方式有着直接的关联,广西 F、N 和 W 3 家食蟹猴养殖公司食蟹猴基本以来源于越南、柬埔寨、缅甸和老挝等多个国家的野生群体为主,经过多次引种和本场育种形成,引种来源覆盖面广,且时间跨度大,存栏数量大,开展的遗传繁育方式较合理,故本次检测广西食蟹猴杂合度较高。皮道元等^[14]采用 11 个微卫星位点分析了广西引种回来的柬埔寨、越南和老挝食蟹猴群体的遗传多样性,共检测到平均等位基因数 N_a 为 11.82 个,平均有效等位基因 8.15 个,总群体期望杂合度为 0.8562。刘欢^[8]采用 18 个微卫星位点对我国广东、广西、云南和海南 4 省饲养的食蟹猴进行遗传多样性分析亦显示,广西群体平均观察杂合度分别为 0.6546、0.6299、0.6948,平均期望杂合度分别为 0.8390、0.8135、0.8326,与本研究杂合度相似。李瑞生等^[1]的研究结果亦表明食蟹猴个体间均呈现高度的多态性,基因多样性为 0.7832~0.8801,香隆信息指数为 1.5651~2.1592,且雌雄个体间无差异。

对 3 个生产群的群体间遗传关系分析可见,群体间的遗传分化系数 F_{st} 均值为 0.0402,依据 Wright^[15]建议,当 F_{st} 在 0~0.05 之间说明种群间遗传分化很小,0.05~0.15 之间中等遗传分化,0.15~0.25 之间遗传分化大,大于 0.25 遗传分化极大。本研究 3 个生产群间的遗传分化很小,平均 95.98% 的遗传变异存在于群体之内,只有 4.02% 的遗传变异存在于群体之间,群体内的遗传变异是主要的变异来源。群体间的遗传分化水平与基因流密切相关,Wright 认为若基因流 $N_m < 1$,有限的基因流是促

使群体发生遗传分化的主要原因,若 $Nm > 1$, 基因流能防止不同地区亚群体间发生遗传分化^[16]。本研究 Nm 均值为 5.9616, 群体间基因流动较频繁, 可防止群体间产生遗传分化。对 3 个生产群的遗传距离和亲缘关系分析亦可见, 3 个群体的遗传距离较小, 亲缘关系较近, F 群体和 N 群体遗传距离最近, 为 0.2556, 遗传相似度最高, 达 77.45%, N 群体和 W 群体的遗传距离最远, 为 0.3223, 遗传相似度为 72.45%。聚类分析也显示, F 群体和 N 群体先聚为一类, 再和 W 群体聚为一类, 符合 3 个繁殖猴场各自关联引种历史特征。刘欢^[6]对国内广西等 4 省笼养的食蟹猴进行遗传多样性研究, 结果亦表明广西群体遗传距离为 0.2126 ~ 0.3571, 遗传相似度为 69.97% ~ 80.85%, 与本研究相似。

本研究运用微卫星 DNA 标记技术有效分析了广西食蟹猴的遗传多态性和群体间的遗传关系, 为今后建立广西食蟹猴遗传背景资源库, 指导食蟹猴的生产繁殖, 建立遗传背景清楚的食蟹猴种群提供了理论依据。同时也为在广西建立食蟹猴微卫星 DNA 遗传质量监测奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 李瑞生, 李晓娟, 高蓉, 等. 食蟹猴微卫星 DNA 标记遗传监测及多态性分析[J]. 中国比较医学杂志, 2011, **21**(8): 27-30.
- [2] 江鹏亮, 汤球, 余琛琳, 等. 非人灵长类动物模型在医学研究中的应用概况[J]. 实验动物科学, 2010, **27**(6): 59-64.
- [3] 高建峰, 滕利, 周立, 等. 恒河猴和食蟹猴在结核病研究中的应用进展[J]. 实验动物科学, 2014, **31**(6): 51-55.
- [4] 季芳, 饶军华, 刘晓明. 应用微卫星标记对海南和广西恒河猴遗传多样性的研究[J]. 实验动物科学与管理, 2006, **23**(2):

26-30.

- [5] 张卉, 李进华, 赵健元, 等. 皖南山区猕猴种群的形态特征与微卫星遗传多样性初步分析[J]. 实验动物与比较医学, 2008, **28**(4): 225-229.
- [6] 李瑞生, 赵爽, 高蓉, 等. 恒河猴与食蟹猴微卫星 DNA 多态性的比较分析[J]. 中国实验动物学报, 2009, **17**(1): 57-60.
- [7] 周建华, 李志雄, 杨燕燕, 等. 基于微卫星 DNA 标记分析福建猕猴与河南猕猴的遗传多样性[J]. 福建中医药, 2017, **48**(5): 30-34.
- [8] 刘欢. 我国笼养食蟹猴种群遗传多样性与亲子鉴定研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010: 1-43.
- [9] 瞿陆峰, 潘伟荣, 曾养志. 微卫星 DNA 标记及其应用[J]. 畜牧与饲料科学, 2010, **31**(4): 6-8.
- [10] Kikuchi T, Hara M, Terao K. Development of a microsatellite marker set applicable to genome-wide screening of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) [J]. Primates, 2007, **48**(2): 140-146.
- [11] Nikzad S, Tan S G, Yong S Y C, et al. Genetic diversity and population structure of long-tailed macaque (*Macaca fascicularis*) populations in Peninsular Malaysia [J]. J Med Primatol, 2014, **43**(6): 433-444.
- [12] Smith D G, Ng J, George D, et al. A genetic comparison of two alleged subspecies of Philippine cynomolgus macaques [J]. Am J Phys Anthropol, 2014, **155**(1): 136-148.
- [13] 李芳芳, 魏杰, 王洪, 等. 应用微卫星标记对两个豚鼠封闭群的遗传学研究[J]. 中国比较医学杂志, 2014, **24**(12): 33-38+46.
- [14] 皮道元, 谢莉萍, 卢晟盛, 等. 利用微卫星标记分析 4 个食蟹猴群体的遗传多样性[J]. 中国兽医学报, 2011, **31**(3): 444-448.
- [15] 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.
- [16] 曲若竹, 侯林, 吕红丽, 等. 群体遗传结构中的基因流[J]. 遗传, 2004, **26**(3): 377-382.

(下转至第 73 页)

The Establishment of Cerebral Ischemia Model by Electrocoagulation in Balb/c Mice

ZHANG Xuemei¹, LI Bing¹, CHEN Lijie¹, JIAO Zhuomin¹, HUANG Shan¹, SHANG Hong²

(1. Department of Neurology, Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

(2. Department of Neurology, Forth Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150080, China)

Abstract: Objective To investigate the feasibility of establishment of focal cerebral ischemia model in Balb/c mice by electrocoagulation. **Method** The model of mice about focal cerebral ischemia was mimicked with direct MCA occlusion. Forty adult male Balb/c mice were randomized into experimental group and control group. Twenty-four hours and 72 hours after middle cerebral artery occlusion, the neurological function was evaluated according to the modified neurological function severity score (mNSS). **Result** At 24 hours, the neurological function scores in the experimental group were decreased compared with control group, the difference could sustain to 72 hours later. Specifically, in the experimental group we can find the interstitial edema, cavitation, partly architecture become rarefaction, the number of nerve cells was decreased, the pigmentation of nerve cells was fairly tasteless, and the cell degeneration, karyopyknosis, nucleoli abolition could be found in ischemia brain tissues. **Conclusion** Modified electrocoagulation method mimicked with direct MCA occlusion can help us establish focal cerebral ischemia model in experimental research.

Key words: Ischemic brain injury; Balb/c mice; electrocoagulation approach; experimental research

(上接第 68 页)

Genetic Study of Guangxi *Macaca fascicularis* Using Microsatellite DNA Markers

ZHANG Jiehong, QIN Huiyan, LI Bin, YANG Hui, WANG Fang, CHEN Huafeng

(Guangxi Autonomous Regional Center for Disease Control and Prevention, Guangxi, Nanning 530028, China)

Abstract: Objective To genetic monitoring of Guangxi *Macaca fascicularis* from different breeding groups, and analyze their genetic background, provide basic information for establishing the genetic quality monitoring method and population repository of Guangxi *Macaca fascicularis*. **Method** Twenty microsatellite DNA markers and capillary electrophoresis were adopted to genetic detect Guangxi *Macaca fascicularis* from three different breeding groups, and the genetic variation parameters within and between populations were calculated. **Result** A total of 237 alleles were detected in the Guangxi *Macaca fascicularis*, the observed allelic number was ranging from 5 to 19, with a mean of 11.85. The mean expected heterozygosity was 0.85, and the mean polymorphism information content was 0.817. In the three different breeding groups (F, N and W), respectively, 158, 158 and 173 alleles were detected, the mean expected heterozygosity was 0.8371, 0.8318 and 0.8642, and the mean polymorphism information content was 0.7692, 0.7653 and 0.8001. The three breeding groups showed the high genetic diversity. The Hardy-Weinberg equilibrium test for 3 breeding groups showed that most loci were in H-W equilibrium. Respectively, the average F_{is} , F_{it} , F_{st} of all loci was 0.0235, 0.0628, 0.0402, the index of gene flow was 5.9616, which implied that 3 breeding groups was nearly under the random mating system and had low genetic differentiation. The genetic distance was ranging from 0.2556 to 0.3223, the genetic similarity was 0.7245 to 0.7745. Cluster analysis showed that F population first clustered with N population, after that clustered with W population, it is conformed to their historical introduction. **Conclusion** The study effectively analyzed the genetic diversity and genetic relationship of Guangxi *Macaca fascicularis*, and the 20 microsatellite DNA markers selected in this study could be used to detect genetic quality of *Macaca fascicularis*.

Key words: *Macaca fascicularis*; Microsatellite DNA markers; Genetic monitoring