何洋,章秀林,张秋宇,等. 实验用鹌鹑遗传检测方法的初步建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(2): 101-107.
He Y, Zhang XL, Zhang QY, et al. Establishment of a genetic monitoring method for laboratory quails [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(2): 101-107.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.02.012

实验用鹌鹑遗传检测方法的初步建立

何 洋[1,2],章秀林[2,3],张秋宇[2],张晓璐[2],傅 博[2],王文栋[2],杜小燕[2],
陈振文[2],李长龙[2*]

(1.大连医科大学护理学院,辽宁 大连 116044;2.首都医科大学基础医学院,北京 100069;
3.中国医学科学院阜外医院,北京 100037)

【摘要】 目的 建立封闭群实验用鹌鹑微卫星 DNA 遗传检测方法。**方法** 通过文献检索,筛选鹌鹑微卫星位点,利用种间转移法,在鹌鹑近缘物种—鸡和鸭筛选适合鹌鹑的微卫星 DNA 位点。提取鹌鹑肝组织 DNA 作为模板,并通过 PCR 扩增以及琼脂糖凝胶电泳技术,对相应的位点进行筛选。最后根据所选微卫星位点扩增情况、等位基因数目和多态性等,筛选出适用于鹌鹑遗传质量检测的微卫星位点组合并建立检测方法。**结果** 初步确定适用于封闭群实验用鹌鹑遗传检测的 23 个微卫星位点组合。**结论** 初步建立了实验用鹌鹑的遗传质量检测方法。

【关键词】 实验用鹌鹑;遗传检测方法;微卫星;封闭群
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 02-0101-07

Establishment of a genetic monitoring method for laboratory quails

HE Yang[1,2], ZHANG Xiulin[2,3], ZHANG Qiuyu[2], ZHANG Xiaolu[2], FU Bo[2], WANG Wendong[2], DU Xiaoyan[2],
CHEN Zhenwen[2], LI Changlong[2*]

(1. School of Nursing, Dalian Medical University, Dalian 116044, China. 2. Capital Medical University School of Basic Medical Sciences, Beijing 100069. 3. Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100037)

【Abstract】 Objective To establish a genetic monitoring method for laboratory quails. **Methods** Quail microsatellite loci were searched in the literature, and microsatellite DNA loci suitable for quails were screened by an interspecific transfer method in closely related species, namely chickens and ducks. Quail liver DNA was extracted as a template, and the corresponding loci were screened by PCR amplification and agarose gel electrophoresis. On the basis of amplification of the selected microsatellite loci, the number of alleles, polymorphisms, and microsatellite loci combinations for quail genetic quality detection were selected and detection method were developed. **Results** We preliminary determined 23 microsatellite loci for genetic monitoring of closed-colony laboratory quails. **Conclusions** A genetic monitoring method for laboratory quails was preliminary developed.

【Keywords】 laboratory quails; genetic monitoring method; microsatellite; closed colony
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

实验动物是生命科学研究和生物医药产业重要的实验材料。随着科学水平的升高及科研的发展,科研人员提高了对于实验动物的质量要求。实验动物质量包括微生物质量和遗传质量,实验动物遗传质量作为保证实验结果均一性和准确性的重要因素[1],其检测可作为有效手段以评价实验动物

[基金项目]国家重点研发计划(2022YFF0711005,2021YFF0703200);国家自然科学基金(32070537);北京市自然科学基金-北京市教育委员会重点项目(KZ20210025037)。
[作者简介]何洋(1993—),女,博士,讲师,研究方向:医学遗传学。E-mail:595272181@qq.com
[通信作者]李长龙(1976—),男,博士,副教授,副研究员,研究方向:实验动物资源开发及遗传与发育研究。E-mail:licl@ccmu.edu.cn

遗传质量。遗传质量检测的方法有多种,微卫星标记技术是一项可靠且便于应用的技术。

近年来,鹌鹑作为一种实验用动物,被广泛应用于生命科学和生物医学等领域的科学研究中[2-5],并且实验动物学价值较高且极具潜力。尽管如此,国内还没有实验用鹌鹑相关质量控制标准,给实验动物法制化、规范化和标准化管理造成重要的影响。遗传质量是实验动物质量控制的重要内容。但是由于遗传因素对试验结果的影响具有隐蔽性和滞后性,在实验前和实验中很难发现,对实验结果影响更为严重。目前,实验用鹌鹑的遗传分析方法尚不成熟,缺少遗传标准和遗传检测方法的研究,使得实验用鹌鹑的遗传质量没有统一的控制标准,影响了实验用鹌鹑在医学研究及实验中结果的准确性和稳定性[2]。

微卫星 DNA(microsatellite DNA)具有丰富的多态性,等位基因代间传递符合孟德尔遗传规律,呈共显性遗传,并且具有重复性好、简便、快速的特点[6]。微卫星 DNA 遗传标记检测法已经在大小鼠[7-8]、长爪沙鼠[9-10]、鸡[11]、猪[12]、山羊[13]等实验动物质量控制方面有良好的应用。

在微卫星 DNA 位点的选择方面,由于研究报道较少,没有相关的鹌鹑的微卫星位点可供参考。因此,我们利用种间转移法,从亲缘关系较近的物种筛选用于鹌鹑微卫星位点[14],通过检索相关文献的已知鸡、鸭的微卫星位点,对鹌鹑的基因组 DNA 进行 PCR 扩增、琼脂糖电泳和测序技术筛选位点,并根据位点的扩增情况、等位基因数目及基因的多态性等方面挑选出适用于建立鹌鹑遗传检测的微卫星位点组合,建立实验用鹌鹑的遗传质量检测技术,为实验用鹌鹑的遗传质量标准和法制化管理奠定技术基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

实验选用朝鲜龙城和迪法克 2 个封闭群鹌鹑群体,购自北京德岭鹌鹑养殖场。朝鲜龙城和迪法克在 1994 年引种自北京种禽公司,群体内采用全随机交配方式繁殖。随机抽取 2 个封闭群内 3 代内非近亲的个体各 40 只,45 日龄,雌雄各半,朝鲜龙城鹌鹑样本体重(150±10)g,迪法克鹌鹑样本体重(240±10)g。动物由养殖场屠宰加工,实验所取肝样本于-20 ℃低温保存。本课题动物实验经首都医科大学动物实验及实验动物福利委员会批准(AEEI-2023-162),所有实验做到实验动物 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

6×Loading Buffer(9156,Takara,大连宝生物工程有限公司);50 bp DNA marker(3590A,Takara,大连宝生物工程有限公司);Tris-饱和酚(T0250,北京索莱宝科技有限公司);蛋白酶 K(P9460,北京索莱宝科技有限公司);细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。微量分光光度计(Nanodrop,美国);核酸凝胶成像系统(Gel Doc™ XR+,美国 Bio-rad 公司);PCR-30 型核酸电泳仪(美国 Bio-rad 公司);PCR 扩增仪(ALS1296 型,美国 Bio-rad 公司);DreamTaq Green PCR Master Mix (K1081,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);微卫星及荧光标记微卫星引物、STR 扫描由北京天一辉远生物科技有限公司完成。

1.3 实验方法

1.3.1 鹌鹑微卫星位点的检索

本研究利用前期筛选和本实验室获得的已知鸡、鸭的微卫星位点[11,14],随机挑选出 100 个位点以供筛选。

1.3.2 鹌鹑肝组织样本 DNA 的提取

鹌鹑肝组织样本 DNA 的提取采用细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒进行,基因组 DNA 浓度和纯度的监测通过微量分光光度计和 0.8%琼脂糖凝胶电泳进行,使用双蒸水(ddH_2O)稀释所有 DNA 样本至浓度为 50 ng/μL,然后置于-20 ℃冰箱保存。

1.3.3 用 PCR 技术和琼脂糖凝胶电泳进行位点的初筛

本实验所选位点的 PCR 扩增采用 20 μL 反应体系,包括 1 μL 的基因组 DNA 样品(50 ng/μL),各 1 μL 的上游引物(10 μmol/μL)和下游引物(10 μmol/μL),10 μL Mix,补充 7 μL ddH_2O。PCR 反应程序设定为 94 ℃预变性 5 min,94 ℃变性 30 s,退火 30 s(扩增时采用梯度退火温度),72 ℃延伸 30 s,循环 30 次,72 ℃继续延伸 7 min;扩增后,将产物于 4 ℃冰箱保存。所筛选的微卫星位点 PCR 扩增的引物序列及退火温度,参考已知鸡、鸭的微卫星位点的引物序列及退火温度。PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,每孔加样 5 μL,调节电压为 130 V,时间为 70 min,拍照成像。根据电泳结果,筛选出能够成功扩增且条带较为清晰、无非特异性扩增的位点 34 个。

1.3.4 基因组池法筛选微卫星位点并凝练位点组合

将每个鹌鹑样品基因组 DNA 样品分别稀释到 50~100 ng/μL 后,将 2 个种群各 40 个个体样本的基因组 DNA 样品混合为 DNA 池。

琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物,配制 2%琼脂糖凝胶,取扩增产物加样,设定电泳条件为电压 5 V/cm,时间 30 min,并用凝胶成像仪器进行图像采集和分析。2 个封闭群中筛选出 23 个扩增效率高、特异性较好的微卫星位点保留。

1.3.5 荧光引物扩增与 STR 扫描

将筛选出的扩增效率高、特异性较好的 23 个微卫星位点重新合成荧光标记引物,分别标记为 FAM、HEX、TAMRA,荧光标记位于上游引物 5'端。

荧光引物扩增采用 20 μL 反应体系,PCR 反应条件遵循最终确定的优化条件,将 PCR 扩增产物用 STR 扫描仪进行扫描,3 个微卫星位点可同时一次扫描,且 3 个位点分别用 FAM、HEX、TAMRA 进行标记,每组 3 个位点片段大小间差异度应尽量大于 50 bp。为进行 STR 扫描,将每个样品 3 种荧光标记扩增产物各抽取 1 μL 混合,再吸取每个混合样品 1 μL。

1.3.6 STR 扫描结果的统计分析

在 Gene Marker 软件导入最终的扫描,读出并记录扫描波峰扩增产物的大小及数值。每个微卫星位点的等位基因按片段长度大小排列并分别记录为 A、B、C、D、E、F 等,之后每个样品的基因型分别用 AA、BB、CC、AB、BC 等字母组合来记录。分析出现的波形:只有一个主波,说明样本为纯合基因型,若有两个或两个以上主波,说明样本为杂和基因型。

1.4 统计学方法

将从 STR 扫描得到的信息转换为 popgene 3.2、PIC_CALC 软件所需格式并进一步计算观测等位基因数、有效等位基因数、香农指数、有效杂合度和多态性信息含量等信息。

2 结果

2.1 鹌鹑微卫星位点的 PCR 初筛

将从鸡和鸭的微卫星位点中筛选的 100 个微卫星位点,使用鹌鹑肝样品的基因组 DNA 进行 PCR 扩增后,经 2%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,根据扩增结果初步筛选出微卫星位点 34 个。电泳结果如图 1A~1G 所示。

然后使用 2 个封闭群鹌鹑的 DNA 池进行 PCR 扩增,根据扩增结果,选择多态性较高的微卫星位点(即电泳条带较宽,或者电泳结果显示有 2 条或以上主要条带的位点,如图 1H~1K 所示),最终挑选出 23 个微卫星位点。

2.2 鹌鹑 23 个微卫星位点 STR 扫描分析

采用 STR 扫描分析琼脂糖凝胶电泳筛选获得的 23 个微卫星位点,并在 Gene Marker 软件中导入最终扫描结果,读出波峰处的扩增产物长度并记录。每个微卫星位点分析结果详见表 1。将波峰形状异常或等位基因较少的位点排除,最终确定 23 个位点用于封闭群遗传检测。

以 CAUD010 位点为例(图 2),在朝鲜龙城群体 1 号 DNA 样本表现为 243 bp 片段,为纯合子;在迪法克群体 2 号 DNA 样本中表现为 241 bp 片段和 243 bp 片段,为杂合子。

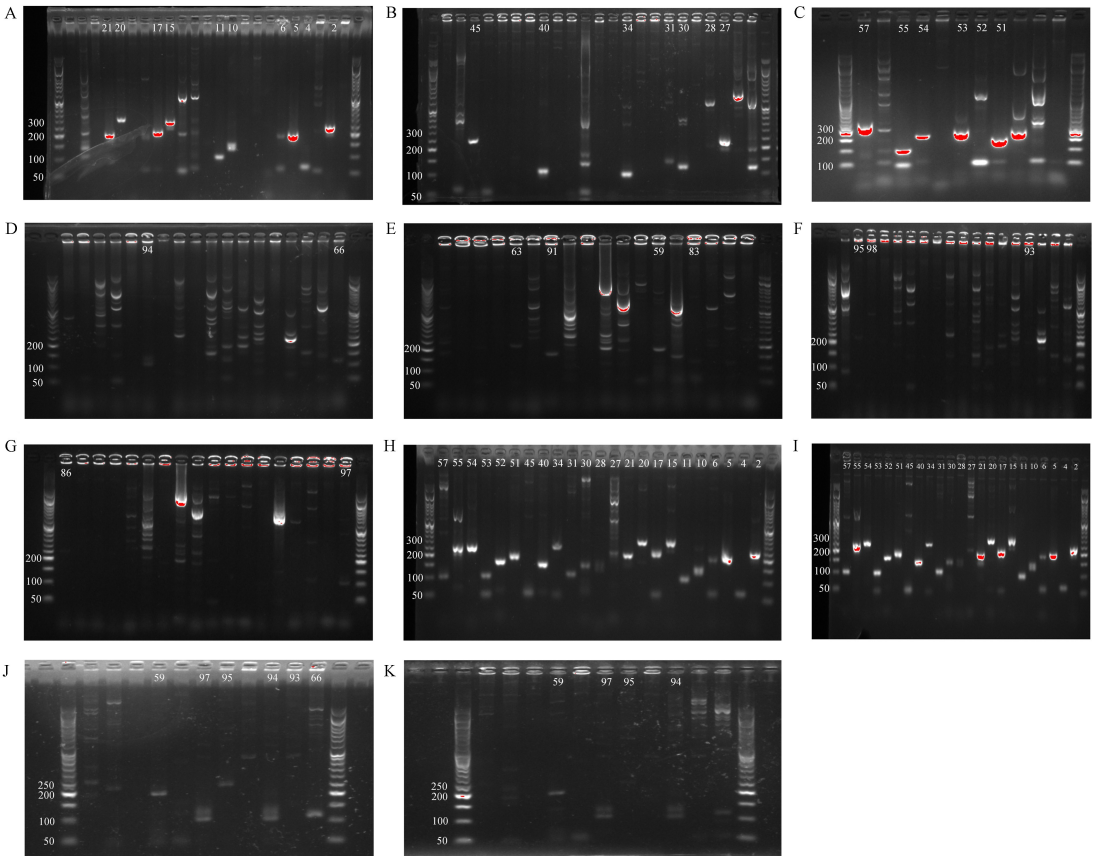
2.3 群体遗传分析

2.3.1 群体位点分析

在 popgene 3.2 软件中导入经 STR 扫描分析确定的实验用鹌鹑的位点信息,分析实验用鹌鹑样品在所筛选的 23 个位点上的观测等位基因数、有效等位基因数、香农指数及有效杂合度。在朝鲜龙城和迪法克鹌鹑 2 个种群中,23 个微卫星位点平均观测等位基因数为 9.87 个,均表现出高度多态性,其中观测等位基因数最高的位点是 APH09,为 20 个,观测等位基因数最低的位点是 AY314、ADL298 和 GGVITC,均为 6 个;平均有效等位基因数为 6.26 个,其中有效等位基因数最高的位点是 APH09,为 9.96 个,有效等位基因数最低的位点为 AY314,为 3.09 个;平均香农指数为 1.97,其中香农指数最高的位点是 APH09,为 2.59,香农指数最低的位点是 AY314,为 1.36,表明在封闭群中,所筛选的 23 个位点的遗传多样性差别均较大,遗传多样性较好;平均有效杂合度为 0.83,有效杂合度最高的位点是 APH09,为 0.91,有效杂合度最低的位点是 ADL298,为 0.71,表明群体中杂合度差异较大。具体信息详见表 2。

2.3.2 群体遗传结构分析

群体分析结果显示,朝鲜龙城和迪法克鹌鹑群体的平均观测等位基因数分别为 8.04 和 9.83;平均有效等位基因数分别为 5.49 和 5.95;平均香农指数分别为 1.79 和 1.96;平均有效杂合度分别为 0.81 和 0.83。

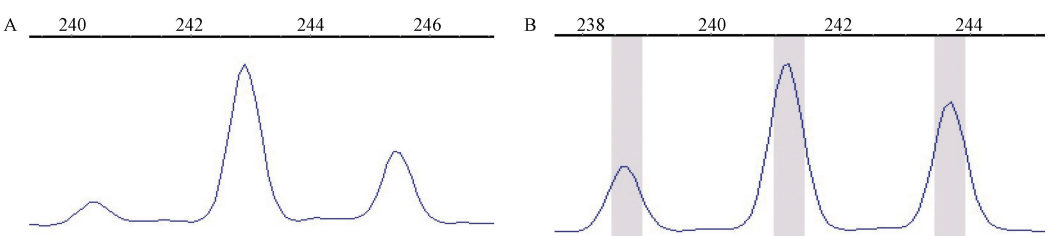


注:A~C:鹌鹑的鸡亲缘微卫星位点 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果;D~E:鹌鹑的鸭亲缘微卫星位点第 1 次 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果;F~G:鹌鹑的鸭亲缘微卫星位点第 2 次 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果;H:利用鸡微卫星位点,以朝鲜龙城鹌鹑 DNA 池为模板进行 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果;I:利用鸡微卫星位点,以迪法克鹌鹑 DNA 池为模板进行 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果;J:利用鸭微卫星位点,以朝鲜龙城鹌鹑 DNA 池为模板进行 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果;K:利用鸭微卫星位点,以迪法克鹌鹑 DNA 池为模板进行 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果。

图 1 鹌鹑微卫星位点的 PCR 初筛结果

Note. A~C, PCR amplification products' agarose gel electrophoresis results of microsatellite loci of chicken relatives of quail. D~E, First PCR amplification products' agarose gel electrophoresis results of microsatellite loci of duck relatives of quail. F~G, Second PCR amplification products' agarose gel electrophoresis results of microsatellite loci of duck relatives of quail. H, Agarose gel electrophoresis results of PCR amplification products using the DNA pool of Korean quail on microsatellite sites of chickens. I, Agarose gel electrophoresis results of PCR amplification products using the DNA pool of Difak quail on microsatellite sites of chickens. J, Agarose gel electrophoresis results of PCR amplification products using the DNA pool of Korean quail on microsatellite sites of ducks. K, Agarose gel electrophoresis results of PCR amplification products using the DNA pool of Difak quail on microsatellite sites of ducks.

Figure 1 PCR screening results of quail microsatellite loci



注:A:CAUD010 位点在朝鲜龙城群体 1 号 DNA 样本中表现为 243 片段,纯合子;B:CAUD010 位点在迪法克群体 2 号 DNA 样本中表现为 241 bp 片段和 243 bp 片段,杂合子。

图 2 CAUD010 位点 STR 检测结果示例

Note. A, CAUD010 locus appears as a 243 bp fragment, homozygous, in the DNA sample of Korea quail-1. B, CAUD010 locus is expressed as a 241 bp fragment and a 243 bp fragment, heterozygous, in the DNA sample of Difak quail-2.

Figure 2 Result of loci CAUD010 in STR scanning

表 1 23 个鹌鹑微卫星位点 STR 扫描结果统计

Table 1 Statistics of STR scanning results of 23 quail microsatellite loci

序号 No.	位点 Loci	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	等位基因数目/*n* Allele number	等位基因范围/bp Allele range
2	MCW0330	TGGACCTCATCAGTCTGACAG AATGTTCTCATAGAGTTCCTGC	9	330~348
4	ADL166	TGCCAGCCCGTAATCATAGG AAGCACCACGACCCAATCTA	7	211~223
5	LEI0094	CAGGATGGCTGTTATGCTTCCA CACAGTGCAGAGTGGTGCGA	16	318~446
6	MCW0014	AAAATATTGGCTCTAGGAACTGTC ACCGGAAATGAAGGTAAGACTAGC	15	283~331
10	ADL0292	CCAAATCAGGCAAAACTTCT AAATGGCCTAAGGATGAGGA	13	151~243
11	ADL0293	GTAATCTAGAAACCCCATCT ACATACCGCAGTCTTTGTTC	12	427~449
15	LEI0074	GACCTGGTCCTGACATGGGTG GTTTGCTGATTAGCCATCGCG	10	359~383
17	LEI0141	CGCATTTGATGCATAACACATG AAGGCAAACTCAGCTGGAACG	7	151~163
20	MCW0087	ATTTCTGCAGCCAACTTGGAG CTCAGGCAGTTCTCAAGAACA	10	336~354
28	MCW0402	ACTGTGCCTAGGACTAGCTG CCTAAGTCTGGGCTCTTCTG	10	289~329
30	ADL298	CAAGGCTGGGATTGATGAAA TGGCGTGTGGGTTTACAAAA	7	104~120
34	ADL328	CACCCATAGCTGTGACTTTG AAAACCGGAATGTGTAACTG	11	220~240
45	STMSGGHU2-1A	CTTAATATGTGTGAGGTGGC GTTCTCACAATTGCATTAGC	12	399~421
52	GGMYC*	GAGCTACGGACGCTCCTTTG GAGTACTGCGAGCCGGAGCT	12	318~340
53	GGMYC	CGAGGCGCTCTGCGAGTTTA TGGGGACCTCTGGCTCTGAC	15	174~246
54	GGVITIIG	GGCAGGTTTCTAATGCCTGA CCCATCGTTTCAACTGTATG	9	277~293
55	GGVITC	AGCCATCATTCAGGGCATCT GATGTCCTGAGTGATGCTCA	6	92~102
59	CAUD002	CTTCGGTGCCTGTCTTAGC AGCTGCCTGGAGAAGGTCT	11	236~256
66	CAUD010	GGATGTGTTTTTCATTATTGAT AGAGGCATAAATACTCAGTG	8	237~251
93	AY314	CTCATTCCAATTCCTCTGTA CAGCATTATTATTTCAGAAGG	6	106~116
94	CMO211	GGATGTTGCCCCACATATTT TTGCCTTGTTTATGAGCCATT	7	158~170
95	CMO212	CTCCACTAGAACACAGACATT CATCTTTGGCATTTTGAAG	13	374~398
97	APH09	GGATGTTGCCCCACATATTT TTGCCTTGTTTATGAGCCATTA	20	303~389

表 2 实验用鹌鹑样品的遗传参数

Table 2 Genetic parameters of experimental quail samples

序号 No.	位点 Loci	等位基因数目 Allele number	有效等位基因数目 Effective number of alleles	平均杂合度 Average heterozygosity	香农指数 Shannon's index	多态性信息含量 PIC
1	CAUD002	9	5.9410	0.8370	1.9415	0.7979
2	CAUD010	10	5.3024	0.8165	1.7997	0.7590
3	AY314	6	3.0918	0.6766	1.3560	0.5538
4	CMO211	7	4.1783	0.7656	1.6268	0.6886
5	CMO212	10	7.3209	0.8693	2.1259	0.8419
6	APH09	20	9.9560	0.9056	2.5948	0.8478
7	MCW0330	8	5.7280	0.8310	1.8842	0.7936
8	ADL166	7	4.5134	0.7835	1.6989	0.6967
9	LEI0094	15	9.2169	0.8915	2.4109	0.8517
10	MCW0014	14	7.3858	0.8701	2.2995	0.8513

续表2

序号 No.	位点 Loci	等位基因数目 Allele number	有效等位基因数目 Effective number of alleles	平均杂合度 Average heterozygosity	香农指数 Shannon's index	多态性信息含量 PIC
11	ADL0292	10	7.1185	0.8665	2.1139	0.8295
12	ADL0293	12	7.6179	0.8748	2.2310	0.8355
13	LEI0074	11	6.8854	0.8548	2.1018	0.8207
14	LEI0141	7	5.1114	0.8044	1.7466	0.6759
15	MCW0087	9	5.5377	0.8246	1.8913	0.7836
16	MCW0402	9	5.7876	0.8331	1.9442	0.8023
17	ADL298	6	3.4348	0.7134	1.4725	0.6459
18	ADL328	10	5.8824	0.8352	1.9811	0.7719
19	STMSGGHU2-1A	11	7.7145	0.8759	2.1725	0.8314
20	GGMYC*	9	6.9264	0.8610	2.0529	0.8215
21	GGMYC	14	9.1839	0.8981	2.3938	0.8541
22	GGVITIIG	9	5.8608	0.8294	1.9015	0.7708
23	GGVITC	6	4.2485	0.7646	1.5701	0.6314
	Mean	9.87	6.2584	0.8312	1.9701	0.7720

3 讨论

实验动物是科学研究的重要实验材料,并在众多领域得到广泛的应用。实验用鹌鹑在药物实验及生物实验中被广泛应用,但目前由于缺乏实验用鹌鹑的遗传标准及遗传检测方法,各实验室及科研机构采用的实验用鹌鹑的遗传质量并不明确,难以保证实验用鹌鹑的遗传质量,从而易造成应用实验用鹌鹑其实验结果的准确性及可重复性较差。因此,本研究旨在研究和建立实验用鹌鹑的群体遗传质量控制遗传检测技术方法,为实验用鹌鹑的质量标准以及法制化管理奠定技术基础。

目前常用的实验动物遗传检测方法主要包括形态学、细胞学及 DNA 分子标记检测方法。而这些传统的遗传检测方法缺点明显,如可检测位点少、耗时长、检测数目受限等。而微卫星 DNA 分子标记可以直接从 DNA 分子水平上反应遗传变异,检测生物间差异。微卫星 DNA 有丰富的多态性,等位基因世代传递符合孟德尔遗传规律,且呈共显性遗传,具有重复性好、简便、快速的特点。本课题组已经利用微卫星遗传检测技术建立了实验用鸡和鸽的遗传检测方法[15-16],为本实验研究奠定了基础。

群体的基因杂合度表示位点上某等位基因的频率,可以反映出检测基因的丰富度。平均有效杂合度反映群体的遗传变异程度,是其遗传多样性的重要指标[17]。一般认为,当群体的平均有效杂合度<0.5 时,表明该群体内个体的遗传多样性较低[18],可能存在近交衰退风险,不符合封闭群实验动物的要求;当平均有效杂合度为 0.5~0.7 时,表明该群体具有较为丰富的遗传多样性[19];当平均有效杂合度>0.7 时,表明该群体具有较高的遗传多样性,在经过必须的系统选育后,才能够推广使用[20]。本实验中朝鲜龙城和迪法克鹌鹑群体的平均有效杂合度分别为 0.81 和 0.83,表明 2 个鹌鹑群体的基因杂合度较高,遗传多样性高,具有较好的选育潜力。

平均香农指数是衡量群体多态性的指数,本实验中朝鲜龙城和迪法克鹌鹑群体分别为 1.79 和 1.96,表明其生物多样性较高。微卫星 DNA 位点的多态性可用多态性信息含量(PIC)作为指标来衡量。当 PIC 为 0.25~0.5 时,表明该位点为中度多态,当 PIC<0.25 时,表明该位点为低度多态,当 PIC >0.5 时,表明该位点为高度多态[21]。本实验中所筛选的 23 个微卫星位点均 PIC>0.5,表明这些位点均高度多态,遗传信息丰富[22],可以作为遗传标记用于实验用鹌鹑群体的遗传多样性分析。

本研究通过多次筛选,优化出了 23 个微卫星位点用于实验用鹌鹑的遗传检测,初步建立了实验用封闭群鹌鹑的遗传质量检测技术,为实现实验用封闭群鹌鹑遗传质量控制标准的建立提供支持。

参考文献:

[1] 刘艳, 王珑. 浅述实验动物质量控制[J]. 中国公共卫生管理, 2011, 27(1): 25-27.
LIU Y, WANG L. Discussion on quality control of experimental animals[J]. Chin J Public Health Manag, 2011, 27(1): 25-27.

[2] 王丽莎, 庞有志. 鹌鹑的实验动物学价值[J]. 生物学通报, 2013, 48(5): 8-11.
WANG L S, PANG Y Z. Laboratory animal science value of quail[J]. Bull Biol, 2013, 48(5): 8-11.

[3] 李昌文, 于海波, 都成, 等. 鹌鹑实验动物化简史及相关研究进展[J]. 中国家禽, 2023, 45(5): 85-91.
LI C W, YU H B, DU C, et al. Brief history and recent advances of quail breeding as laboratory animal[J]. China

Poult, 2023, 45(5): 85-91.

[4] WU H, WANG Y, HUANG J, et al. Rutin ameliorates gout via reducing XOD activity, inhibiting ROS production and NLRP3 inflammasome activation in quail [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 158: 114175.

[5] META M, BILČÍK B, ČAVARGA I, et al. The potential effect of leptin co-administration on photodynamic damage using quail chorioallantoic membrane model [J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2023, 43: 103711.

[6] 刘先菊, 王艳蓉, 魏强. 常用实验动物遗传质量检测方法概述 [J]. 医学动物防制, 2013, 29(8): 864-869.
LIU X J, WANG Y R, WEI Q. Overview of genetic quality monitoring method on laboratory animals [J]. J Med Pest Contr, 2013, 29(8): 864-869.

[7] 左琴, 魏杰, 付瑞, 等. 应用微卫星技术对 KM 小鼠种子群体遗传质量进行比较分析 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 819-823.
ZUO Q, WEI J, FU R, et al. Population genetic quality analysis of a closed KM mouse colony by microsatellites [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(6): 819-823.

[8] 魏杰, 左琴, 王洪, 等. 基于团体标准 T/CALAS21—2017 的 Wistar 大鼠微卫星 DNA 群体遗传质量分析 [J]. 实验动物与比较医学, 2021, 41(6): 528-534.
WEI J, ZUO Q, WANG H, et al. Population genetic quality analysis of microsatellite DNA in wistar rats based on T/CALAS 21—2017 [J]. Lab Anim Comp Med, 2021, 41(6): 528-534.

[9] 李薇, 江其辉, 杜小燕, 等. 封闭群长爪沙鼠遗传标准的建立 [J]. 实验动物科学, 2011, 28(2): 31-36.
LI W, JIANG Q H, DU X Y, et al. Establishment of genetic standards of closed colony gerbil [J]. Lab Anim Sci, 2011, 28(2): 31-36.

[10] 冯丹丹, 陈沫, 杜小燕, 等. 利用基因组数据对长爪沙鼠微卫星位点的筛选与优化 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(7): 1-7, 16.
FENG D D, CHEN M, DU X Y, et al. Screening and optimization of microsatellite loci in Mongolian gerbils using genomic data [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(7): 1-7, 16.

[11] 朱庆, 李亮. 四川地方乌骨鸡种群遗传变异的微卫星 DNA 分析 [J]. 四川畜牧兽医, 2002, 29(8): 26-27, 29.
ZHU Q, LI L. Genetic diversity in Sichuan black-bone chicken lines as revealed by microsatellite DNA markers [J]. Sichuan Anim Vet Sci, 2002, 29(8): 26-27, 29.

[12] 樊斌, 李奎, 彭中镇, 等. 湖北省三品种猪 27 个微卫星座位的遗传变异 [J]. 生物多样性, 1999, 7(2): 91-96.
FAN B, LI K, PENG Z Z, et al. Genetic variation of 27 microsatellite loci in three Hubei indigenous pig breeds [J]. Biodiversity Sci, 1999, 7(2): 91-96.

[13] 杨澜. 利用微卫星标记分析五个中国地方山羊品种的遗传多样性 [D]. 武汉: 华中农业大学, 1999.
YANG L. Analysis of genetic diversity of five China local goat breeds by microsatellite markers [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 1999.

[14] SUN H S, KIRKPATRICK B W. Exploiting dinucleotide microsatellites conserved among mammalian species [J]. Mamm Genome, 1996, 7(2): 128-132.

[15] 王艺宁, 刘新梦, 章秀林, 等. 封闭群实验用鸽微卫星 DNA 遗传检测方法的初步建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 17-22.
WANG Y N, LIU X M, ZHANG X L, et al. Establishment of a genetic monitoring method for a closed colony of laboratary pigeons based on microsatellite DNA [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 17-22.

[16] 崔爱缺, 宫昳頔, 章秀林, 等. 实验用鸡的遗传检测方法的初步建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 23-30.
CUI A Q, GONG (D/Y) D, ZHANG X L, et al. Preliminary establishment of genetic detection method for experimental chickens [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 23-30.

[17] 衣帅, 谢姗珊, 刘继峰, 等. 微卫星 DNA 标记技术对试验用虎皮猫群体遗传结构的分析 [J]. 中国兽医学报, 2013, 33(1): 137-141.
YI S, XIE S S, LIU J F, et al. Analysis of genetic structure of experimental tiger skin cat population by microsatellite DNA marker technology [J]. Chin J Vet Sci, 2013, 33(1): 137-141.

[18] CHAKRABORTY R, ZHONG Y, DE ANDRADE M, et al. Linkage disequilibria among $(CA)_n$ polymorphisms in the human dystrophin gene and their implications in carrier detection and prenatal diagnosis in Duchenne and Becker muscular dystrophies [J]. Genomics, 1994, 21(3): 567-570.

[19] 曲鲁江, 李显耀, 徐桂芳, 等. 利用微卫星标记分析中国地方鸡种的遗传多样性 [J]. 中国科学: 生命科学, 2006, 36(1): 17-26.
QU L J, LI X Y, XU G F, et al. Analysis of genetic diversity of China local chicken breeds by microsatellite markers [J]. Sci Sin Vitae, 2006, 36(1): 17-26.

[20] 伍革民, 张继, 唐继高. 4 个贵州乌骨鸡群体遗传关系的微卫星标记分析 [J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 169-171.
WU G M, ZHANG J, TANG J G. Microsatellite marker analysis of genetic relationships among four Guizhou black-bone chicken populations [J]. Jiangsu Agric Sci, 2018, 46(21): 169-171.

[21] VANHALA T, TUISKULA-HAAVISTO M, ELO K, et al. Evaluation of genetic variability and genetic distances between eight chicken lines using microsatellite markers [J]. Poult Sci, 1998, 77(6): 783-790.

[22] 包文斌, 束婧婷, 许盛海, 等. 样本量和性比对微卫星分析中群体遗传多样性指标的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2007, 43(1): 6-9.
BAO W B, SHU J T, XU S H, et al. Influence of sample size and sex ratio on population genetic diversity index in microsatellite analysis [J]. Chin J Anim Sci, 2007, 43(1): 6-9.

〔收稿日期〕2023-04-29