

# FMMU 白化豚鼠 DNA 指纹图研究初报

王洪涛<sup>1</sup>袁为望<sup>1</sup>袁高丽丽<sup>2</sup>渊第一军医大学实验动物学教研室袁广东 广州 510515曰广州花卉研究中心袁广东 广州 510360冤

摘要目的 研究 FMMU 渊第一军医大学的英文缩写冤白化豚鼠遗传特性袁为培育 FMMU 白化豚鼠提供依据和基础资料遥方法 以 M13mp18 单链 DNA 为探针袁对 FMMU 白化豚鼠及普通花色豚鼠的 DNA 指纹图进行比较分析遥结果 FMMU 白化豚鼠同一个体不同组织的 DNA 指纹图完全一致袁其平均带数为 23.4袁有品种特征带趋向袁两个随机个体具有完全相同 DNA 指纹图概率为 5.5伊0<sup>-6</sup>遥结论 DNA 指纹图能准确反映 FMMU 白化豚鼠遗传变异度以及与花色豚鼠的遗传差异遥

关键词 遗传特性 豚鼠 曰 M13mp18DNA 曰 DNA 指纹图谱

中图分类号 曰 Q523 文献标识码 曰 文章编号 曰 000-2588(2001)02-0143-03

王洪涛 袁为望 袁高丽丽 渊第一军医大学实验动物学教研室袁广东 广州 510515曰广州花卉研究中心袁广东 广州 510360冤

WANGHong-tao<sup>1</sup>,GUWei-wang<sup>1</sup>,GAOLi-li<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Laboratory Animal Science, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; <sup>2</sup> Flower Research Center, Guangzhou 510360, China)

粤语摘要 目的 提供 FMMU 渊 First Military Medical University 的缩写冤白化豚鼠的遗传特性研究的基本信息袁为培育 FMMU 白化豚鼠提供依据和基础资料遥方法 以 M13mp18 单链 DNA 为探针袁对 FMMU 白化豚鼠及普通花色豚鼠的 DNA 指纹图进行比较分析遥结果 FMMU 白化豚鼠同一个体不同组织的 DNA 指纹图完全一致袁其平均带数为 23.4袁有品种特征带趋向袁两个随机个体具有完全相同 DNA 指纹图概率为 5.5伊0<sup>-6</sup>遥结论 DNA 指纹图能准确反映 FMMU 白化豚鼠遗传变异度以及与花色豚鼠的遗传差异遥

运语关键词 遗传特性;豚鼠;DNA 指纹图谱

DNA 指纹图能准确反映群体遗传特征袁并为群体的遗传距离和遗传变异度的估测提供一个准确的度量遥目前袁 DNA 指纹分析技术已成功应用于从人尧动物尧植物到微生物等的相关研究中遥封闭群 FMMU 白化豚鼠是本室即将育成的一个新品系实验动物遥我们对其繁殖性能尧生长发育尧心电图尧血液生化指标尧药物敏感性及其耳蜗电位等方面进行了初步研究遥结果表明袁白化豚鼠听觉灵敏度和缺氧耐受性与花色豚鼠有明显差异袁且生长发育正常遥本实验研究 FMMU 白化豚鼠遗传特性袁为育成白化豚鼠提供可靠依据和基础资料遥

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 从本室培育的 FMMU 白化豚鼠群体和繁殖的花色豚鼠封闭群中随机选取健康豚鼠各 16 只袁雌雄各半袁体质量 0.0 依 0.0 冤

1.1.2 试剂 各种内切酶尧尼龙膜尧多引物标记盒 Primer-琢 Gene Labeling System 购自 Promega 公司曰 Proteinase K 和 Triton X-100 购自 Sigma 公司曰琢<sup>32</sup>P)

dCTP 购自北京亚辉生物工程公司曰 M13 mp18 为华美生物工程公司产品遥

### 1.2 方法

1.2.1 染色体 DNA 提取 从每只豚鼠心脏采集肝素抗凝血 8 ml 袁按文献所述方法稍加改进袁从血液白细胞中提取总 DNA 袁按此法每 8 ml 血样可得到 150 滋左右的高纯度基因组 DNA 遥

1.2.2 DNA 电泳及 Southern 转移 每样品 10 滋 DNA 经完全酶切后袁用 25cm 的 1% 琼脂糖凝胶在 30 V 条件下电泳分离 4 h 袁按改进的 Southern 印迹法袁将 DNA 转移并固定到尼龙膜上遥

1.2.3 探针制备 用 悦酶 酶切 M13mp18 DNA 袁电泳分离后袁离心法回收有效片段作为探针袁用多引物标记盒和 渊<sup>32</sup>P冤 dCTP 标记探针袁经柱层析 渊ephadex G-50冤纯化探针遥

1.2.4 杂交及放射自显影 尼龙膜浸入适量杂交液中袁 益预杂交 6 h 袁按 1伊0<sup>6</sup> cpm/ml 加入变性的探针袁 益杂交 16~18 h 遥 1伊<sup>5</sup>SC 袁 1% SDS 洗脱液 55 益洗膜两次各 30min 袁将尼龙膜置于有增感屏和 X 光片的暗盒中袁室温放射自显影 1~7 d 遥

1.2.5 分析方法 所有图带分析均在原始放射自显影 X 光胶片上进行袁所分析图带大小范围为 2.0~23.1 kb 遥胶片上位置相同尧显影强度基本一致的图带视为完全相同的带袁同一胶片上的两两个体配对比较袁

收稿日期 曰 000-04-18

基金项目 曰 广东省自然科学基金资助 渊90389冤

作者简介 曰 王洪涛 渊1969-冤男袁湖北武汉人袁1996 年毕业于解放军农牧大学袁硕士袁讲师袁电话 曰 20-85140114-89009 援

找出它们相同的图带遥

### 2 结果

#### 2.1 DNA 指纹图分布特点

M13mp18 探针能与 FMMU 白化豚鼠和花色豚鼠基因组 DNA 的  $Hae$  III 酶切片杂交产生高度变异的 DNA 指纹图。图 1 显示在 2.0~23.1 kb 之间图带清晰可见。易于识别。从图 1 可以看出 FMMU 白化豚鼠 DNA 指纹图带主要集中在大片段区域 6.5~23.1 kb 之间。普通花色豚鼠的图带多分布于 2.3~6.5 kb 小片段区域内。有品种特征带趋向。

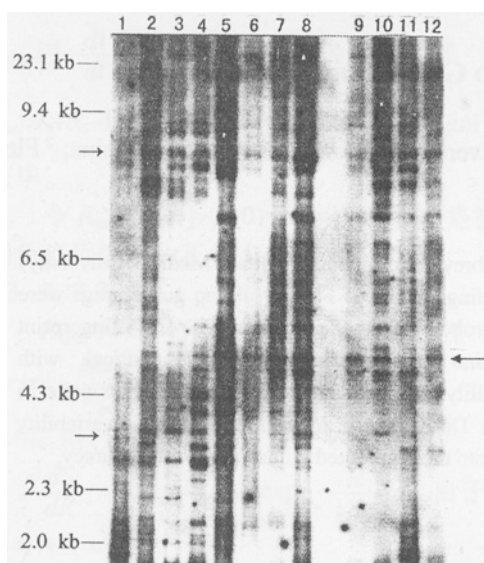


图 1 M13mp18 探针产生的豚鼠的 DNA 指纹图

Lane 1 to lane 5 are DNA fingerprints of different FMMU albino guinea pig individuals; Lane 6 to lane 11 are DNA fingerprints of different pigmented guinea pig individuals

#### 2.2 两品系 DNA 指纹图变异性比较

每个品系 16 个个体两两配对比较。得到 FMMU 白化豚鼠与花色豚鼠遗传多态性参数相似系数。共有图带的概率。平均等位基因频率。最低平均杂合率。及两个随机个体具有的 DNA 指纹图谱概率。

#### 2.3 FMMU 白化豚鼠 DNA 指纹图的组织稳定性及重复性检测

从 3 只白化豚鼠的肝脏血液中提取基因组 DNA。用探针 M13mp18 和酶  $Hae$  III 进行分析。发现

表 2 FMMU 白化豚鼠与花色豚鼠 DNA 指纹图谱的变异性

Parameter	FMMU albino guinea-pig	Pigmented guinea-pig
云	0.59	0.58
载	0.60	0.58
择	0.36	0.35
Ht	0.64	0.65
孕	5.5伊 <sup>0</sup>	1.5伊 <sup>2</sup>

同一个体不同组织细胞的 DNA 指纹图完全相同。同一 DNA 样品分成几份平行处理。同胶或异胶电泳。同次或不同次杂交。所得 DNA 指纹图几乎是一致的。差异主要表现为同一条带在不同胶上迁移率不同。

### 3 讨论

无外源 DNA 片段的细菌噬菌体 M13mp18 最初由 Vassart 等发现。能够作为 DNA 指纹探针。它由 1 个 15bp 的随机重复单位组成。核心核苷酸序列为 5'-GAGGGTGGXGGXTCT-3'。本研究所用探针是从 M13 mp18 DNA 中用  $Hae$  III 酶解得到的 2.89 kb 片段。在 2.0~23.1 kb 间平均获得 24.2 条清晰可辨的图带。所产生的指纹图是高度变化的。应用 M13mp18 探针对豚鼠无亲缘关系个体检测所得的指纹图表明。该探针检测的 DNA 片段其多态性可与 Jeffreys 的小卫星探针相比拟。

DNA 指纹图代表了基因组中多个区域的遗传信息。DNA 指纹分析的目的是检测小卫星或微卫星重复单位数目的变异性。因此避免了选用可能产生其它类型变异的限制性内切酶。

在重复实验中发现。M13mp18 探针和  $Hae$  III 能在 FMMU 白化豚鼠上产生不同于花色豚鼠的共有带。即图 1 在 2.3~4.3 kb 及 5~9.4 kb 间各产生一条。在所有 FMMU 白化豚鼠个体均有大小相同的图带。而花色豚鼠仅在 4.3~6.5 kb 之间产生一条共同带。图 1 右侧箭头。这些图带能否作为区分白化豚鼠与花色豚鼠的特征带。有待进一步系统研究。

由表 2 可见。探针 M13mp18 和酶  $Hae$  III 产生的白化豚鼠的指纹图的各项参数均大于花色豚鼠。很多研究表明。DNA 指纹图相似系数 F 是衡量个体间遗传变异程度的可靠参数。所有个体两两配对比较得到 F 平均值。可以粗略地反映个体间亲缘关系。个体间血缘关系越近。遗传变异性越低。值越大。白化豚鼠是从普通花色豚鼠突变种中选育而成。经过若干代选育后。使一些基因位点纯化和一定程度的近亲交配。导致其遗传基础变窄。

### 参考文献

咱暂 Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual specific fingerprints of human DNA. *Nature*, 1985, 316: 76-9.

咱暂 Ali S, Muller CR, Epplen JT. DNA fingerprinting by oligonucleotide probe specific for simple repeats. *Hum Genet*, 1987, 74: 239-43.

咱暂 王洪涛, 孙金海. 13/17 易位纯合子猪 DNA 指纹分析. *咱暂生物技术通讯*, 1997, 8(3): 112.

咱暂 王洪涛, 袁进, 顾为望. 封闭群 FMMU 白化豚鼠繁殖与生长发育的初步观察. *咱暂中国实验动物学报*, 1997, 5(1): 37-38.

咱暂 顾为望, 王洪涛, 张嘉宁. 封闭群 FMMU 白化豚鼠与三色豚鼠血液成分比较. *咱暂中国实验动物学报*, 1997, 5(1): 23-28.

咱暂 张嘉宁, 顾为望, 王洪涛. 封闭群 FMMU 白化豚鼠心电图分析[J].

上海实验动物科学,1999,19(1):35-37.  
 咱哲林继红,顾为望,单春文,封闭群FMMU白化豚鼠血小板对诱导剂反映性的实验咱哲上海实验动物科学,1999,19(2):127-9.  
 咱哲DouglasAM,GeorgesAM,BentonLR,藻藻藻urificationofhuman leucocyteDNA: proteinaseKisnotnecessary咱哲 AnalBiochem, 1992,201:362-5.

咱哲VassartG,GeorgasM,MonsieurR,藻藻藻AsequenceofM13phage detectshypminisatelliteinhumanandanimalDNA 咱哲 Science, 1987,235:683-4.  
 咱哲LynchM. ThesimilarityindexandDNAfingerprint咱哲 MolBiol Evol,1990,7(5):478-83.

藻藻藻任编辑陈旺忠冤

# 脑肿瘤术后并发结核性脑膜炎 1 例

周青藻敬安袁王利清藻| 策袁君渊解放军 309 医院神经外科袁北京 100091冤

关键词| 结核性脑膜炎| 脑肿瘤

中图分类号| 藻739.4 文献标识码| 藻 文章编号| 000-2588藻001冤02-0145-01

## 1 临床资料

患者袁男性袁5 岁袁因左额部胶质瘤术后 3 个月复发二次入院遥查体院一般状况好袁发热袁咳嗽袁盗汗袁无抵抗袁神经系统未见阳性体征遥三大常规及肝肾功能化验均正常遥胸片未见异常袁头部 CT 示左额叶混杂密度不均匀强化袁右侧脑室前角受压明显袁肿瘤复发遥行二次开颅袁除肿瘤袁病理报告星形细胞瘤 - 级袁术中静点噻吗灵 3.0 袁预防感染袁术后青霉素 960 万 U 藻磷胺嘧啶钠 4.0 g 联合应用遥第 2 天开始发热袁盗汗袁头痛袁颈抵抗袁体温持续 38.5 益袁最高为 39.5 益遥腰穿袁测脑压 380.0mmH<sub>2</sub>O 袁脑脊液常规| 藻浊袁细胞总数 3.85伊<sup>0</sup>/L 袁白细胞 2.95伊<sup>0</sup>/L 袁多核 90% 袁单核 10% 曰生化院血糖 3.51 mmol/L 袁蛋白质 1.16 g/L 袁| 112.0 mmol/L 袁细菌培养阴性袁考虑为颅内感染袁改用噻吗灵 6.0 g 分两次静滴遥后体温降至 37 益袁头痛减轻袁颈仍有抵抗遥 d 后腰穿复查脑压 210.0 mmH<sub>2</sub>O 袁脑脊液常规| 藻浊袁细胞总数 9.50伊<sup>0</sup>/L 袁白细胞 1.30伊<sup>0</sup>/L 袁多核 40% 袁单核 60% 曰生化院糖 3.27 mmol/L 袁蛋白质 1.09 g/L 袁| 118.0 mmol/L 遥3 d 体温又升至 38.6 益袁并盗汗遥结核菌素试验藻+++ 袁血液藻 SF 结明试验阳性袁结核杆菌 PCR 阳性袁血沉 40.0 mm/h 遥血常规| 藻白细胞 8.5伊<sup>0</sup>/L 袁多核 35% 袁单核 65% 袁CSF 培养阴性袁考虑为结核性颅内感染遥异烟肼 0.8 静脉滴注袁藻 1 次 /d 曰链霉素 25 mg 肌肉注射袁藻 次 /d 曰利福平 0.6 mg 口服袁藻 次 /d 曰吡嗪酰胺 0.5 mg 口服袁藻 次 /d 遥1 周后体温正常袁头痛袁颈无抵抗袁查腰穿| 藻压 190.0 mmH<sub>2</sub>O 袁脑脊液常规| 藻浊袁细胞总数 2.0伊<sup>0</sup>/L 袁白细胞 1.0伊<sup>0</sup>/L 袁生化院糖 2.85 mmol/L 袁蛋白质 0.48 g/L 袁| 128.0 mmol/L 袁血沉 12.0 mm/h 遥病人 10 d 后出院袁继续口服抗结核药物半年袁随访 2 年袁袁脑肿瘤复发及结核性脑膜炎复发遥

## 2 讨论

### 2.1 感染途径

颅内感染分为特异性感染和非特异性感染袁本例病人二

者兼有遥颅内感染途径有直接感染袁病灶感染袁血行感染袁或经由脑脊液径路感染遥本例颅内感染可能为开颅手术时普通细菌和结核杆菌直接进入颅内袁或开颅手术后机体抵抗力下降袁加之术后使用激素袁导致体内原有的结核杆菌通过血液循环到颅内引起颅内感染遥

### 2.2 临床表现

颅内感染急性发病袁通常于术后第 2 天开始发热袁头痛袁颈抵抗遥普通细菌感染袁发热呈持续性高热| 结核性感染多为午后发热袁体温 38 益左右袁伴有盗汗遥严重的颅内感染可致颅高压袁病人可因脑疝死亡遥本例病人早期表现为非特异性感染袁持续高热袁头痛袁经普通抗感染治疗后症状有所好转袁周后表现为结核性感染症状袁术后发热袁盗汗遥

### 2.3 诊断

非特异性颅内感染依据发热袁头痛袁颈抵抗等症状及腰穿化验脑脊液常规和生化不难诊断遥特异性颅内感染| 结核杆菌引起的感染有时不易早期确诊遥本例病人早期根据病史诊断为非特异感染袁治疗后病情反复袁考虑为合并结核性感染遥脑脊液结核菌素试验后确诊为合并结核性感染遥

### 2.4 治疗

颅内感染一旦确诊袁应尽快应用大剂量易通过血脑屏障的广谱抗生素| 第三代头孢菌素袁噻吗灵袁罗氏芬袁达欣等袁并行腰穿脑脊液检查袁培养及药敏试验遥| 果效果不佳袁或者一度好转又复发袁则应考虑是否合并特异性感染遥常见为结核性袁霉菌性遥一旦诊断为结核性感染袁应采取异烟肼袁链霉素袁利福平袁吡嗪酰胺 4 种药物联合应用袁临床症状控制后袁| 至少坚持口服抗结核药物半年袁防止复发遥本例病人由于及时确诊袁及时对症治疗袁病情很快得以控制袁完全治愈袁坚持服药半年袁随访 2 年未复发遥

## 参考文献院

咱哲赵仰胜. 颅内特异性感染性疾病咱哲见: 王忠诚. 神经外科学[M]. 湖北科学技术出版社,1998.735-46.  
 咱哲徐俊玲,藻藻藻,藻藻藻,藻藻藻. 颅内结核性感染磁共振成像呈结核性改变的临床意义咱哲中华神经科杂志,2000,33:104-6.

收稿日期| 000-05-18

作者简介| 周青藻,女,袁994 年毕业于第一军医大学藻藻藻科袁藻藻藻师袁电话| 10-66775065