

藏羚羊 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究

周 慧^{1,2}, 李迪强², 张于光^{2,3}, 易湘蓉^{1,2}, 刘 毅¹

(1. 湖南农业大学动物科学与技术学院, 湖南 长沙 410128;

2. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 北京 100091;

3. 湖南农业大学生物安全科学与技术学院, 湖南 长沙 410128)

摘要: 该研究采用非损伤性 DNA 基因分型技术, 对可可西里地区 10 个藏羚羊 (*Pantholops hodgsonii*) 个体的 mtDNA 非编码区部分片段 (444~446 bp) 进行了序列分析, 结果显示 A、T% 含量 (61.8%) 明显高于 G、C% 含量 (38.2%), 共发现 10 种单倍型, 包括 48 个多态位点, 其中转换位点 44 个、颠换位点 1 个、插入位点 1 个、缺失位点 2 个。单倍型间平均遗传距离为 0.031, 单倍型多态性 (h) 为 1.000, 核苷酸多态性 (π) 为 2.96%。说明藏羚羊线粒体控制区存在着丰富变异, 最后从藏羚羊的生态习性及地理分布两方面对这一结果进行了分析探讨。

关键词: 藏羚羊; 线粒体 D-loop 区; 单倍型; 遗传多样性

中图分类号: Q987

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2006)03-0299-07

Study on Mitochondrial DNA Genetic Diversity of Tibetan Antelope

ZHOU Hui^{1,2}, LI Di-Qiang², ZHANG Yu-Guang^{2,3}, YI Xiang-Rong^{1,2}, LIU Yi¹

(1. College of Animal Science and Technology of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Institute of Forestry Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

3. College of Biosafety Science and Technology of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: With noninvasive DNA genotyping technology, we investigated genetic diversity of Tibetan antelope by analyzing mitochondrial DNA variation, those samples are collected from Hoh Xil National Nature Reserve, Qinghai province, China. A total of 444~446 bp of the mitochondrial control region was sequenced from 10 individuals. The results showed that A% + T% (61.8%) was higher than C% + G% (38.2%) obviously. Ten haplotypes were identified in the 10 samples. The result showed 48 polymorphic sites after comparisons of the 10 haplotype samples, among them, including 44 transitions, 1 transversion, 1 insertion and 2 deletions. The average genetic distance of haplotypes is 0.031. The haplotypic diversity is 1.000. The nucleotide diversity is 0.0296. The average number of nucleotide differences is 13.127. It showed that the Tibetan antelope population has high variation in mitochondrial D-loop sequence.

Key words: Tibetan antelope; mitochondria; displacement-loop region; haplotype; genetic diversity

动物 mtDNA 是动物体内惟一发现的核外遗传物质, 脊椎动物的 mtDNA 大小在 16.5 kb 左右, 为双链环状 DNA 分子, 以母系遗传方式遗传。其结构简单、稳定、世代间没有基因重组且进化速度较快,

能更直观保存群体突变的发生^[1]。mtDNA 比核位点更易受遗传漂变的影响^[2]。利用 mtDNA 多态性分析不仅可以在一定层面上了解种群的遗传多样性, 还可以探讨形成特定遗传结构的历史原因和地

收稿日期: 2005-02-21; 修回日期: 2005-03-28

基金项目: 国家科技部社会公益项目“濒危动物保护技术”(编号: 2001DIB100058) 和国家“十五”科技攻关项目(编号: 2001BA510B10) 资助

[Supported by a grant from Conservation Technology for Endangered Wildlife Program, Social Service Project of the Ministry of Science and Technology (No. 2001DIB100058), and the National Key Project of 10th Five-Year Plan(No. 2001BA510B10)]

作者简介: 周 慧 (1979—), 女, 硕士, 研究方向: 兽医分子生物学。E-mail: zhouhui0402@163.com

通讯作者: 李迪强 (1966—), 男, 研究员, 首席专家, 研究方向: 野生动物保护学。Tel: 86-10-62889551; E-mail: reserve@caf.ac.cn

理原因^[3],是一种非常有用的遗传标记。

线粒体 DNA 控制区又称为替代环区 (displacement-loop region),或 D 环,它是线粒体基因组中最主要的一段非编码区,位于 tRNA Pro 和 Phe 基因之间,也是线粒体中碱基序列和长度变异最大的区域,进化速率是其他区段的 5 倍^[4],具有碱基替换速率快、存在丰富的序列变异等特点,特别适合于检测种群内及种群间的遗传多样性。Feng^[5]通过对矮岩羊线粒体控制区部分序列进行测序,分析发现其与岩羊相比平均核苷酸歧异度为 12.21%,揭示矮岩羊是一个强烈的独立单元。Zardoya^[6]选择扩增地中海鲑和白鲑的线粒体控制区 5'端 272 bp 和 387 bp 序列,发现这两个关系密切的种群间遗传结构上存在一定程度的差异,显示这两个种群间有不均衡的迁移,表明种群发生过扩张。

藏羚羊是国家一级保护动物,活动区域通常在海拔 4 000 m 以上,主要分布于我国青藏高原,以羌塘为中心,南至拉萨以北,北至昆仑山,东至西藏昌都地区北部和青海西南部,西至中印边界,偶尔有少数由此流入印度境内拉达克^[7]。从 20 世纪 80 年代末开始,由于大规模盗猎、人类活动的干扰及栖息地生态环境恶化等因素的影响,种群数量急剧下降,在许多昔日藏羚羊集聚的地方,如今只有零星的藏羚羊存在。这个古老的物种已经走向面临灭绝的边缘^[8]。目前已经对藏羚羊种群和个体生物学特性、系统发生、体内寄生虫、疾病诊治、绒毛理化特性等多个方面有了一定的了解^[9~13]。然而有关藏羚羊的遗传多样性方面研究还未见报道,深入研究藏羚羊的种群遗传结构、了解其地理分布格局的形成、进化过程及遗传结构,对制定科学的藏羚羊保护措施和资源的保护是势在必行的。本研究旨在通过对藏羚羊线粒体控制区近 5'端部分序列进行多态性分析,对该地区藏羚羊群体内部遗传多样性进行探讨。

1 材料和方法

1.1 样品来源

本次实验共采集了藏羚羊皮张 10 份,由青海省林业局提供,自然风干常温保存,这些皮张样品均来自可可西里地区缴获的盗猎藏羚羊野生种群。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取

干皮样 DNA 的提取综合参照兰宏等^[14,15]的方

法,并加以改进,具体方法如下:取 1 cm² (约 0.05 g)皮张去除表面的毛发及其他附着物,置于 1 mL 浸泡液 (10 mmol/L Tris-HCl, 0.2 mmol/L EDTA, 50 mmol/L NaCl) 中室温放置 2 h;用灭菌剪刀将浸泡后的皮张剪成 1 mm² 的碎片,向碎片中加入 1 mL 含 0.2% 胶原酶的 PBS 缓冲液,37℃ 培养 4 h;3 000 r/min 离心 10 min,弃上清;向沉淀中加入 1 mL 含有 1% SDS、1 mmol/L CaCl₂ 和 100 μg 蛋白酶 K 的 STE 缓冲液,56℃ 水浴 5 h 后再加入 200 μg 蛋白酶 K,37℃ 水浴 2 d,其间每 3~5 h 轻轻混匀一次;10 000 r/min 离心 10 min,取上清;此后抽提等步骤按常规 DNA 提取方法进行^[16]。整个过程中进行空白对照实验。

1.2.2 引物合成与 PCR 扩增

用上游引物^[17] L-5960:5'-GGTAATGTACATAA-CATTAAT-3' 和下游引物^[18] H-16334:5'-CGAGAT-GTCTTATTTAAGAGG-3',扩增线粒体 D-loop 区部分序列,引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,PCR 扩增反应体系为 50 μL,含有 10× 缓冲液, dNTPs 0.1 mmol/L,引物 1 μmol/L, *Taq* 酶 2 U,模板约 20 ng。扩增在 PE-9600 PCR 扩增仪上进行,反应共 35 个循环。反应程序为:95℃ 预变性,3 min;94℃ 变性 50 s,51℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 1 min,共进行 35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min。

1.2.3 PCR 产物纯化与目的片段的克隆及测序

扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离, DNA 纯化试剂盒 (Promega) 纯化目的片段,取纯化的目的片段与 pGEM-T 质粒 (Promega) 重组,并转化到大肠杆菌 DH5α 菌株,转化混合物涂布在含有 X-gal/IPTG 及氨苄青霉素的 LB 平板上,进行蓝白斑筛选,挑选白色菌落于含有 Amp 的液体培养基中扩大培养,按微量碱法提取质粒 DNA,用该质粒的通用引物 (T7/SP6) 对其进行 PCR 扩增,经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,扩增产物大小为 600 bp 左右的为含有插入片段。将确定为阳性克隆的质粒 DNA 进行测序,测序由上海生工生物工程技术服务有限公司完成。

1.2.4 序列分析

序列用 Clustal W (1.83) 软件分析比对,用 MEGA (version 3.0) 中的 Kimura 双参数法计算各单倍型间的遗传距离。利用 DNASP (version 4.0) 软件统计单倍型及变异位点、计算单倍型多样性 (h) 及核苷酸多样性 (π)。与 GenBank 中藏羚羊及近源物

种的线粒体 D-loop 区全序列进行 blast 分析,确定所检序列在线粒体中所处的位置及高变区。

2 结 果

2.1 DNA 提取和 PCR 扩增

应用改进后的皮张 DNA 提取方法,成功地从藏

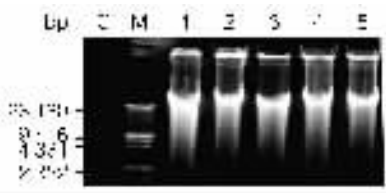


图 1 藏羚羊皮张样本 DNA

C:空白对照样品;M:DNA 分子量标准
(λDNA/HindⅢ);1~5 为样品编号。

Fig.1 DNA extracted from the skin of Tibetan antelope

C indicates negative control; M indicates
λDNA/HindⅢ Marker; 1~5 are the sample codes.

2.2 羚羊 D-loop 序列多态性及核苷酸变异频率

本实验从 10 个藏羚羊样品中扩增并测定出 mtDNA 的 D-loop 区 444~446 bp 序列,所有序列结果都提交 GenBank 数据库,在数据库中的登录号为:AY918069~AY918077 和 AY937261。以 He^[19]的藏羚羊 D-loop 序列(GenBank 登录号为 AY744086)为对照,经 Clustal W(1.83)软件分析比对,结果发现所检测的 10 头藏羚羊均属于不同的单倍型,共检测到 48 个多态位点,占全部序列的 10.76%,其中转换位点 44 个,颠换位点 1 个(C/G),插入位点 1 个,缺失位点 2 个。经 DNASP(4.0)

羚羊的皮张样品中提取了基因组 DNA(见图 1)。扩增结果经琼脂糖凝胶电泳检测(见图 2)未发现非特异性条带,空白对照组未出现扩增产物,实验结果重复性好,可以排除外源 DNA 污染及核 DNA 拷贝的可能性。

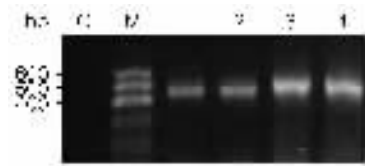


图 2 mtDNA 控制区部分序列扩增结果

C:空白对照样品;M:DNA 分子量标准
(Marker I);1~4 为样品编号。

Fig.2 The amplification result of mtDNA

control region partial sequence

C indicates negative control; M indicates
the Marker I; 1~4 are the sample codes.

检测单倍型多态性(h)为 1.000 ± 0.0015 ,核苷酸多态性(π)为 $2.963\% \pm 0.0013$,各单倍型间序列差异情况及遗传距离见表 1,单倍型间核苷酸差异 1.1%~5.2%,单倍型间平均核苷酸差异碱基数为 13.127,单倍型间遗传距离 0.011~0.055,平均遗传距离为 0.031。在所有检出的序列中平均 TT 重复 130 次,AA 重复 138 次,CC 重复 94 次,GG 重复 69 次,其他组合重复次数很少或没有,平均 A 含量为 31.6%,T 含量为 30.2%,C 含量为 22.2%,G 含量为 16.0%。A、T% 含量(61.8%)明显高于 G、C% 含量(38.2%)(表 1,表 2)。

表 1 各单倍型间序列差异(对角线下)和遗传距离(对角线上)

Table 1 Nucleotide divergence (below diagonal) and genetic distance calculation (above diagonal) for pairwise comparisons between 10 mitochondrial DNA haplotypes in Tibetan antelope

单倍型 Haplotypes	AY	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
AY		0.028	0.025	0.018	0.025	0.025	0.025	0.033	0.033	0.047	0.045
1	0.031		0.025	0.018	0.016	0.03	0.025	0.023	0.033	0.047	0.05
2	0.029	0.025		0.016	0.014	0.023	0.033	0.021	0.03	0.04	0.052
3	0.022	0.018	0.016		0.016	0.016	0.021	0.018	0.018	0.028	0.04
4	0.029	0.016	0.013	0.016		0.018	0.033	0.016	0.025	0.04	0.047
5	0.029	0.029	0.022	0.016	0.018		0.033	0.03	0.011	0.035	0.042
6	0.029	0.025	0.032	0.02	0.032	0.032		0.025	0.035	0.035	0.037
7	0.036	0.022	0.02	0.018	0.016	0.029	0.025		0.037	0.037	0.055
8	0.036	0.031	0.029	0.018	0.025	0.011	0.034	0.036		0.037	0.045
9	0.049	0.045	0.038	0.027	0.038	0.034	0.034	0.036	0.036		0.05
10	0.047	0.047	0.049	0.038	0.045	0.04	0.036	0.052	0.043	0.047	

注:各代码同表 2。

Note: codes are same as Table 2.

3 讨 论

近年来,随着分子生物学技术的发展,使得研究者能从陈旧组织^[14,15]、标本^[20]、微量组织^[21,22]、化石^[23]等材料中提取到 DNA。但是无论采取何种提取方法,获得的 DNA 含量均较低或 DNA 降解严重,不易于 PCR 扩增。尽管许多研究人员不断优化提取步骤,但获得的 DNA 质量一直没有根本的改善。本次实验在前人方法基础上进行了改进,提取到了较高质量的 DNA,并且适用于 PCR 扩增。同时缩短了陈皮浸泡的时间,减少了 DNA 的降解,发现保持较长的消化时间,并且在消化液中加入 CaCl_2 ,对皮张的充分消化是很有必要的。

研究动物 mtDNA 多态性已是当今 mtDNA 研究中的热点问题之一,已被广泛应用于遗传学、分类学、系统进化学、医学等多个学科^[24]。mtDNA 多态性的研究方法主要是限制性长度多态性分析法和测序法^[25],也有报道用微阵列(基因芯片)杂交方法的^[26]。本实验采用测序法,在检出的序列中 A、T 含量明显高于 C、G 含量,这与其他研究报道有一致的结果^[27]。分析藏羚羊的 D-loop 区序列,发现在变异的位点中,发生颠换的位点只有 1 个而发生转换的位点有 44 个,这符合线粒体基因组 DNA 进化过程中,通常发生转换的频率远高于颠换的频率这一规律。

衡量一个种群 mtDNA 的遗传变异有两个重要指标:单倍型间的平均遗传距离(P)和核苷酸多态性(π),由于 π 值考虑了各种 mtDNA 单倍型在群体中所占的比例,因此在反映一个群体的 mtDNA 的多态程度时比单纯的遗传距离平均值要精确, π 值较高则说明群体的遗传多样性较高,据 Neigel 统计^[28],同种哺乳动物个体之间的平均核苷酸顺序歧异值在 0.3% 到 4% 之间,最大时竟达 10% 以上。本研究的 π 值高达 2.96%,这与其他珍稀野生动物相比,是少见的,如非洲花毛羚羊是非洲第二大类羚羊,其线粒体核苷酸多态性为 1.9%^[29],太平洋白鳍豚的线粒体核苷酸多态性为 1.65%^[30],说明藏羚羊群体线粒体 D-loop 区存在着丰富的多态性、我国藏羚羊遗传资源相当丰富,从遗传多样性角度揭示了科学保护藏羚羊这一物种具有很好的前景。

而且本研究在检测到的 10 个藏羚羊个体线粒体 D-loop 区 444 bp~446 bp 序列,发现这 10 个个

体分属于 10 种单倍型,存在如此高的遗传变异可能是由于两方面的原因,一方面可能是由于藏羚羊存在一个相当大的有效种群,另一方面可能是由于藏羚羊不同地理种群间存在基因交流。目前藏羚羊主要分布在中国青海、西藏、新疆三省区,栖息在 4 000~5 000 米的藏北羌塘、青海可可西里、三江源自然保护区以及新疆阿尔金山自然保护区一带令人类望而生畏的“生命禁区”,现存种群数量约在 7 万~10 万只。线粒体是母性遗传的,一个个体就能代表一个母系集团,故通过少量随机的动物个体便可了解一个群体的遗传结构。藏羚羊线粒体丰富的变异预示着其群体间存在雌性介导的基因流。绝大多数藏羚羊具有年迁徙繁殖习性,夏季雌性沿固定路线向北迁徙,6~7 月产仔之后返回越冬地与雄羊合群,在雌性藏羚羊迁徙和产仔过程中是否存在混群或其他因素导致基因流的发生,我们在野外考察中还未得到证实,本次实验结果从一定层面上证实这种推测的可能性。

应该指出的是,mtDNA 多态性水平与核基因多态性水平并不一定呈正相关^[29]。有时会出现 mtDNA 多态性比核基因多态性低的情况^[31,32],有时也会出现 mtDNA 多态性比核基因多态性高的情况^[33],因此用 mtDNA 多样性来描述种群的遗传多样性时如果能与核标记结合起来检测则能更真实地反映该种群的遗传多样性^[34,35]。本次实验对 10 个藏羚羊的线粒体 D-loop 区部分序列进行扩增,发现其线粒体具有丰富的多态性,但核基因多态性水平如何,是否与线粒体多态性水平有一致性,有待选用其他核 DNA 标记(如 SSR 等)对其进行进一步的探讨。

参 考 文 献 (References):

- [1] Bullerwell C E, Gray M W. Evolution of the mitochondrial genome: protist connections to animals, fungi and plants. *Current Opinion in Microbiology*, 2004, 7(5): 528~534.
- [2] Birky C W Jr, Fuerst P, Maruyama T. Organelle gene diversity under migration, mutation, and drift: equilibrium expectations, approach to equilibrium, effects of heteroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. *Genetics*, 1989, 121(3): 613~627.
- [3] LI Ming, RAO Gang, WEI Fu-Wen, FANG Sheng-Guo, TANG Chun-Xiang, Hidetoshi B TAMATE. Population genetic structure and geographic subdivision of the red panda (*Ailurus Fulgens*).

- Acta Zoologica Sinica*, 2002, 48(4): 480~486.
- 李明, 饶刚, 魏辅文, 方盛国, 汤纯香, 玉手英利. 小熊猫种群遗传结构和地理分化. *动物学报*, 2002, 48(4): 480~486.
- [4] Rosel P E, Haygood M G, Perrin W F. Phylogenetic relationships among the true porpoises (*Cetacea: Phocoenidae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1995, 4(4): 463~474.
- [5] Feng J, Lajia C, Taylor D J, Webster M S. Genetic distinctiveness of endangered dwarf blue sheep (*Pseudois nayaur schaeferi*): evidence from mitochondrial control region and Y-linked ZFY intron sequences. *The Journal of Heredity*, 2001, 92(1): 9~15.
- [6] Zardoya R, Castilho R, Grande C, Favre-Krey L, Caetano S, Marcato S, Krey G, Patarnello T. Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, 2004, 13(7): 1785~1798.
- [7] Fox J, C Nurbu, R Chundawat. The mountain ungulates of Ladakh, India. *Biological Conservation*, 1991, 58: 167~190.
- [8] State Forestry Administration. The present status of protection in China Tibetan antelope. *Forest and Human*, 2003, 2: 9~12. 国家林业局. 中国藏羚羊保护现状. *森林与人类*, 2003, 2: 9~12.
- [9] Schaller G B. Wildlife of the Tibetan Steppe. University of Chicago Press, 1998.
- [10] Gatesy J, Amato G, Vrba E, Schaller G, DeSalle R. A cladistic analysis of mitochondrial DNA from the Bovidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1997, 7(3): 303~319.
- [11] Zhigang J, Diqiang L. Antelopes of China. *Izvestiia Akademii nauk, Seriya Biologicheskaya*, 1998(4): 458~461.
- [12] ZHENG Zhong-Chao. Study on the fleece characteristics of Tibetan antelope. *China Herbivores*, 2001, 04: 14~16. 郑中朝. 藏羚羊绒毛纤维特性的研究. *中国草食动物*, 2001, 4(3): 14~16.
- [13] TIAN Fa-Yi, LIU Ying, CI Ren-Yangji, CANG Mu-Jue, DAN Zeng-Luobu. The crania anatomic structure of Tibetan antelope. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2001, 31(2): 42~43. 田发益, 刘英, 次仁央吉, 仓木决, 丹增罗布. 藏羚羊头骨的解剖结构. *中国兽医科技*, 2001, 31(2): 42~43.
- [14] LAN Hong, WANG Wen, SHI Li-Ming. PCR analysis of DNA from fur specimens of muntjacs (*Muntiacus*). *Zoological Research*, 1995, 16(2): 146~152. 兰宏, 王文, 施立明. 鹿属动物陈旧皮张标本的 DNA 提取及 PCR 扩增. *动物学研究*, 1995, 16(2): 146~152.
- [15] RAO Gang, LI Ming, NIU Yi-Dong, WANG Jing, WEI Fu-Wen, FANG Sheng-Guo. A new method for DNA extraction from dried skins. *Chinese Journal of Zoology*, 2001, 36(4): 53~57. 饶刚, 李明, 牛屹东, 王静, 魏辅文, 方盛国. 陈旧皮张中 DNA 提取的新方法. *动物学杂志*, 2001, 36(4): 53~57.
- [16] J Sambrook, D W Russel (Translated by HUANG Pei-Tang). *Molecular Cloning a Laboratory Manual*, 3rd ed. Beijing: Science Press, 2002, 463~470. J 萨姆布鲁克, D W 拉塞尔著 (黄培堂等译者). *分子克隆实验指南 (第三版)*. 北京: 科学出版社, 2002, 463~470.
- [17] Cymbron T, Loftus R T, Malheiro M I, Bradley D G. Mitochondrial sequence variation suggests an African influence in Portuguese cattle. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society*, 1999, 266(1419): 599~603.
- [18] Koncher T, Thomas W K, Meyer A, Edwards S, Pääbo S, Villablanca F, Wilson A. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(16): 6196~6200.
- [19] He. <http://ncbi.nlm.nih.gov/>. GenBank accession number AY744086.
- [20] XU Lai-Xiang, ZHANG Zhi-Bin, SONG Ming-Jing, CAO Xiao-Ping, WANG Fu-Sheng, ZHANG Chun-Guang. A method of extracting genomic DNA from animal specimen preserved in formalin. *Acta Zoologica Sinica*, 2002, 48(2): 264~269. 徐来祥, 张知彬, 宋铭晶, 曹小平, 王福生, 张春光. 福尔马林保存的动物标本基因组 DNA 的提取方法. *动物学报*, 2002, 48(2): 264~269.
- [21] ZHANG Yu-Guang, LI Di-Qiang, RAO Li-Qun, XIAO Qi-Ming, LIU Dan. Identification of polymorphic microsatellite DNA loci and paternity testing of Amur tigers. *Acta Zoologica Sinica*, 2003, 49(1): 118~123. 张于光, 李迪强, 饶力群, 肖启明, 刘丹. 东北虎微卫星 DNA 遗传标记的筛选及在亲子鉴定中的应用. *动物学报*, 2003, 49(1): 118~123.
- [22] ZHAO Chun-Jiang, LI Ning. A study of a brief protocol to extract DNA from hair. *Hereditas (Beijing)*, 2003, 25(1): 69~70. 赵春江, 李宁. 一种从毛发中提取 DNA 的简易方法. *遗传*, 2003, 25(1): 69~70.
- [23] Paabo S, Poinar H, Serre D. Genetic analyses from ancient DNA. *Annual Review of Genetics*, 2004, 38: 645~679.
- [24] XIONG Qing, LIU Zuo-Yi, YU Zi-Niu. Progresses in studies and application of mitochondrial DNA. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2002, 15(3): 111~115. 熊庆, 刘作易, 喻子牛. 线粒体 DNA 的研究与应用. *西南农业学报*, 2002, 15(3): 111~115.
- [25] YANG Juan. The polymorphism of mitochondrial DNA and heredity-breeding of livestock. *Sichuan Animal & Veterinary Sciences*, 2001, 28(1): 32~33. 杨隽. 线粒体 DNA 多态性与家畜遗传育种. *四川畜牧兽医*, 2001, 28(1): 32~33.
- [26] Gabriel M N, Calloway C D, Reynolds R L, Andelinovic S, Primorac D. Population variation of human mitochondrial DNA hypervariable regions I and II in 105 Croatian individuals demonstrated by immobilized sequence-specific oligonucleotide probe

analysis. *Croatian Medical Journal*, 2001, 42(3): 328~335.

- [27] QU Kai-Xing, LIAN Lin-Sheng, NIE Long, SHI Xian-Wei, ZHANG Ya-Ping. Primary analysis of mitochondrial DNA D-loop region sequence in Baoshan pig. *Hereditas* (Beijing), 2001, 25(5): 526~528.
 巧开兴, 连林生, 聂龙, 史宪伟, 张亚平. 云南保山猪线粒体 D-Loop 区序列分析. *遗传*, 2001, 25(5): 526~528.
- [28] Neigel J E, Avise J C. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. *Genetics*, 1993, 135(4): 1209~1220.
- [29] Alpers D L, Van Vuuren B J, Arctander P, Robinson T J. Population genetics of the roan antelope (*Hippotragus equinus*) with suggestions for conservation. *Molecular Ecology*, 2004 13(7): 1771~1784.
- [30] Hayano A, Yoshioka M, Tanaka M, Amano M. Population differentiation in the Pacific white-sided dolphin *Lagenorhynchus obliquidens* inferred from mitochondrial DNA and microsatellite analyses. *Zoological Science*, 2004, 21(9): 989~999.
- [31] Klinbunga S, Siludjai D, Wudthijinda W, Tassanakajon A, Jarayabhand P, Menasveta P. Genetic heterogeneity of the giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in Thailand revealed by RAPD and mitochondrial DNA RFLP analyses. *Marine Biotechnology* (NY), 2001, 3(5): 428~438.
- [32] Baker C S, Perry A, Bannister J L. Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(17): 8239~8243.
- [33] Marshall H D, Ritland K. Genetic diversity and differentiation of Kermode bear populations. *Molecular Ecology*, 2002, 11(4): 685~697.
- [34] Feulner P G, Bielfeldt W, Zachos F E, Bradvarovic J, Eckert I, Hartl G B. Mitochondrial DNA and microsatellite analyses of the genetic status of the presumed subspecies *Cervus elaphus montanus* (Carpathian red deer). *Heredity*, 2004, 93(3): 299~306.
- [35] Carlsson M, Soderberg L, Tegelstrom H. The genetic structure of adders (*Vipera berus*) in Fennoscandia: congruence between different kinds of genetic markers. *Molecular Ecology*, 2004, 13(10): 3147~3152.

第十一届国际植物组织培养和生物技术大会将在北京举行

第十一届国际植物组织培养和生物技术大会(简称 IAPTC&B)定于 2006 年 8 月 13~18 日在北京举行。大会主席:许智宏(北京大学校长),大会秘书长:李家洋(中国科学院副院长),组委会主席:薛勇彪(中国科学院遗传发育所所长),大会财经委员会主席:朱祯(中国科学院生物局副局长)。

本届会议研讨的主要内容有:植物分子生物学与功能基因组学、植物组织培养与转化、植物代谢工程、作物抗性的分子调控与信号传导、作物品种改良与分子育种、植物生物技术与生物反应器、转基因植物与生物安全,生物技术相关的产品及技术转让等。欢迎参会并提交摘要,摘要截止日期 2006 年 5 月 31 日。

本次会议规模大,影响范围广,将有来自美国,英国,法国,德国,日本,俄罗斯,韩国,印度,澳大利亚,加拿大等近百个国家和地区的科学家和企业代表近 2000 人参加大会。将邀请 4~5 位诺贝尔奖获得者、多名中美等国科学院院士、国内外 150 位专家学者作报告。大会将在北京国际会议中心举行,有 4 000 多平方米的展位面积,届时将有世界著名的生物技术跨国公司参会参展。欢迎专业人员报名参会,欢迎学术单位和公司企业参展、协办或资助大会。

大会组委会办公室地址:北京市朝阳区大屯路中国科学院遗传与发育生物学研究所,邮政编码:100101,联系人:赵庆华,电话:010-64838095,传真:010-64878314, E-mail: qhzhao@genetics.ac.cn; http://www.genetics.ac.cn/IAPTCB.htm

招商招展秘书处地址:北京市西城区三里河路 52 号,中国科学院国际学术交流中心 邮政编码:100864,联系人:兰翠玲,电话:86-10-68597751,传真:86-10-68597753, E-mail: cllan@cashq.ac.cn

IAPTC&B 大会财经委员会地址:北京大屯路 中国科学院遗传与发育生物学研究所 邮政编码:100101,联系人:李绍武,电话/传真:010-64889348, E-mail:swli@genetics.ac.cn