

SCAR 分子标记对水貂食毛症遗传病因的初步研究

李秋芳, 魏来, 吕晶, 付晶, 杜智恒, 宁方勇, 白秀娟*

(东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 本研究利用序列特异性扩增(SCAR)技术对健康和食毛水貂进行遗传分析, 旨在从分子水平探讨水貂食毛症的发病原因。首先从 126 个随机引物中筛选出 4 个重复性好的标记引物, 通过引物 A20 和 S139 的扩增在两组群体中找到差异标记(A20-1000, S139-400), 对其进行克隆、测序, 并根据测序结果设计 2 对 SCAR 引物, 回到原样本群体中扩增验证。结果, SA20-757 在食毛和健康水貂群体的分布频率分别为 86.88% 和 27.41%, 差异极显著 ($P < 0.001$); MS139-230 在食毛和健康水貂群体的分布频率分别为 94.21% 和 39.38%, 差异极显著 ($P < 0.001$)。SA20-757 与 MS139-230 联合分析表明, 特异性条带在患病水貂群体的分布频率高达 95.36%, 均比单个 SCAR 特异引物的扩增比例要高。结果提示, SA20-757 与 MS139-230 联合诊断分析, 可以很好的区分健康与食毛水貂群体, 可初步作为水貂食毛症早期诊断的分子生物学手段, 为进一步研究水貂食毛症奠定基础。

关键词: SCAR; 水貂; 食毛症; 遗传病因

中图分类号: S813.3

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2011)07-0939-07

Preliminary Studies on Genetic Etiology of Mink Trichophagia by SCAR

LI Qiu-fang, WEI Lai, LV Jing, FU Jing, DU Zhi-heng, NING Fang-yong, BAI Xiu-juan*

(College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In order to discuss the causes of mink trichophagia at molecular level, SCAR (sequenced characterized amplified region) technology was used to analyze genetic constitution of the healthy and trichophagia mink groups. Four polymorphic primers were screened from 126 random primers by RAPD. The different bands were amplified in healthy and sick mink groups. The specific bands were then cloned and sequenced, two SCAR primers were designed according to their sequence information by primer A20 and S139. Then PCR amplification was carried out in the healthy and trichophagia mink groups. The results showed that the frequency of SA20-757 in the two groups was 86.88% and 27.41%, respectively, and χ^2 test of polymorphic fragments in the two groups showed significant difference ($P < 0.001$); The frequency of MS139-230 in the two groups was 94.21% and 39.38%, respectively, and χ^2 test of polymorphic fragments in the two groups showed significant difference ($P < 0.001$). SA20-757 and MS139-230 associated analysis showed that the frequency of the specific bands in trichophagia mink group reached 95.36%, and it was higher than a single specific primer SCAR. These results indicate that the associated analysis of SA20-757 and MS139-230 can identify the healthy and trichophagia mink populations, and this molecular biological method can be used for the early diagnosis of trichophagia mink.

Key words: SCAR; mink; trichophagia; genetic etiology

收稿日期: 2010-04-27

作者简介: 李秋芳(1983-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 硕士生, 主要从事经济动物生产与遗传育种研究, E-mail: liqiufang315@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 白秀娟, E-mail: bxj630306@163.com

水貂作为珍贵的小型毛皮动物,其经济价值高,效益好。其毛皮具有针毛挺直、灵活华丽、毛绒丰满致密、保暖性强、皮板轻薄、柔韧结实、毛色多样而美观等特点,素有“裘皮之王”的美称。但是,近年来食毛症的发生导致了水貂皮张的损坏、等级下降,已成为水貂养殖业中的突出问题之一。

食毛症是笼养水貂常见的病例,一年四季均可发生,其主要症状是水貂经常咬自己身上的毛(多数咬尾巴),从尾部、后腿、腹部、腰胯直至颈部,发生食毛的部位边缘整齐,几乎和剪刀剪的一样,患病水貂食欲不振、消化不良、便秘及贫血等。严重时影响正常发育,毛皮质量下降,如不及时采取措施治疗,可导致极度消瘦,抗病力低下,易患合并症或被毛团阻塞而死亡,给水貂养殖业造成极大的经济损失。

目前,人们对食毛症的致病原因还不够清楚,国内外学者众说不一。水貂食毛症是不是遗传原因造成的,关于食毛症水貂和健康水貂基因之间是否有差异,至今未见相关报道。本研究利用基于 RAPD 标记的 SCAR 标记技术分别对健康水貂和食毛水貂进行了分子水平的遗传结构分析,探讨水貂食毛症的发病原因和遗传因素的关系,以期揭示水貂食毛症发生的内在机制,为今后水貂的抗病育种、疾病的预防和早期诊断奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 在大连金洲水貂养殖场随机选取 259 只健康水貂和 259 只食毛水貂,采集腿部肌肉组织,置于含有 70% 乙醇的 1.5 mL 的 EP 管中带回实验室,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

1.1.2 随机引物 126 条随机引物由北京六合华大基因科技股份有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 将水貂腿部肌肉组织用酒精清洗,并用蒸馏水反复冲洗后取约 0.2 g,用酚-氯仿法提取基因组 DNA,并溶于 TE 中, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法双重检测 DNA 的纯度和浓度,然后稀释成 $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$,备用。

1.2.2 池 DNA 的制备 取 200 只水貂个体 DNA 模板各 $10\text{ }\mu\text{L}$,将其混合稀释构成一个 DNA

池,并保证每个个体的 DNA 样品在 DNA 池中的浓度为 $50\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$,用于筛选随机引物。再将 100 只健康水貂 DNA 和 100 只食毛水貂 DNA 模板各取 $10\text{ }\mu\text{L}$ 分别混合在一起,构成 2 个不同的 DNA 池,用于 RAPD 标记,筛选有差异标记的引物。

1.2.3 随机引物筛选 首先用 126 个引物分别对群体 DNA 池进行扩增,从中筛选出多态性丰富且条带清晰、主带重复性好的引物 A20 和 S139。然后用筛选出来的引物对 2 个(健康与患病)DNA 池进行 PCR 扩增。

1.2.4 随机扩增反应体系与条件 PCR 扩增总体积为 $25\text{ }\mu\text{L}$,其中灭菌水 $16.3\text{ }\mu\text{L}$, $10\times\text{Buffer}$ (含 Mg^{2+}) $2.5\text{ }\mu\text{L}$,dNTP($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) $2.0\text{ }\mu\text{L}$,随机引物 $2.0\text{ }\mu\text{L}$,*Taq* 酶 $0.2\text{ }\mu\text{L}$,DNA 模板 $2.0\text{ }\mu\text{L}$ 。反应条件: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, $46.2\text{ }^{\circ}\text{C}/41.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 1.5 min,45 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,在凝胶成像仪内观察 DNA 谱带,并照相。

1.2.5 PCR 扩增产物的克隆测序 DNA 扩增片段经过纯化后直接克隆到 pMD18-T 载体上,再转化到大肠杆菌 JM109 中,挑选阳性克隆放入 LB 液体培养基中, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床过夜培养,然后用碱裂解法提取小量质粒。用 *EcoR* I/*Hind* III 双酶切后鉴定确认。将提取的经鉴定为阳性的质粒送至北京六合华大基因科技股份有限公司测序。

1.2.6 SCAR 特异引物的设计 根据 A20 和 S139 测序的结果和引物设计原则,重新设计 2 对 SCAR 引物,引物序列为:SA20: F $5'\text{-CGGATGCCTAATTGACTGAG-3}'$, R $5'\text{-TCTGGAAGAGCTGTGGC-3}'$; MS139: F $5'\text{-AAGATCAAGCAGC-CAGC-3}'$, R $5'\text{-CCTCAAGATTCAGCCATG-3}'$ 。

1.2.7 SCAR 标记的验证 利用 SCAR 标记技术用特异引物对健康水貂个体和患病水貂个体分别进行特异性扩增,记录扩增结果,验证其是否为健康与患病水貂之间的差异标记。PCR 扩增总体积为 $25\text{ }\mu\text{L}$,其中灭菌水 $16.3\text{ }\mu\text{L}$, $10\times\text{Buffer}$ (含 Mg^{2+}) $2.5\text{ }\mu\text{L}$,dNTP($10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) $2.0\text{ }\mu\text{L}$,上下游引物各 $1.0\text{ }\mu\text{L}$,*Taq* 酶 $0.2\text{ }\mu\text{L}$,DNA 模板 $2.0\text{ }\mu\text{L}$ 。反应条件: $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, $60.9\text{ }^{\circ}\text{C}/61.3\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 40 s,35 个循环; $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min; $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳

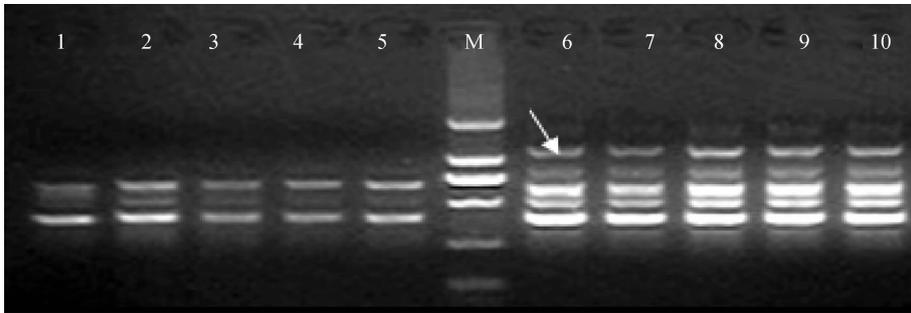
鉴定,在凝胶成像仪内观察 DNA 谱带并记录结果。

1.2.8 统计分析 根据本研究试验群体的特点,采用社会科学统计软件包 SPSS(Statistical Package for the Social Science Release 13.0, SPSS Inc. USA)进行数据管理。计算健康组与食毛组水貂差异标记的分布情况,食毛组与对照组差异标记的频率比较采用卡方检验。

2 结果

2.1 RAPD-PCR 扩增结果

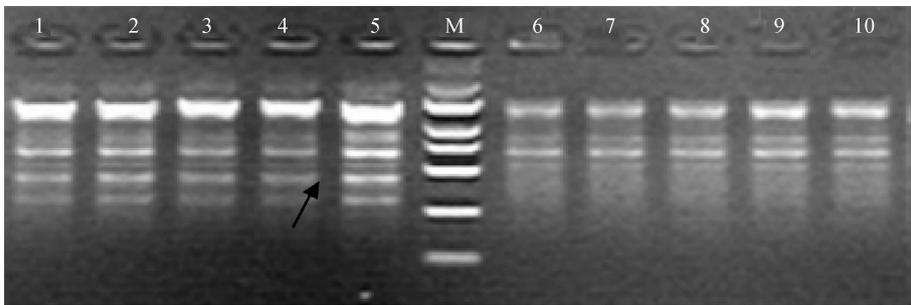
126 个随机引物中筛选出 4 个多态性较好的引物。其中引物 A20 和 S139 仅在患病水貂群中扩增出 1 000、400 bp 左右的 DNA 片段,而在健康组中没有此特异片段(图 1,图 2)。



1~5. 健康水貂;泳道:6~10. 食毛水貂; M. DNA 相对分子质量标准 DL2000
1-5. The healthy minks; 6-10. The trichophagia minks; M. DL2000 marker

图 1 A20 随机引物对健康和食毛水貂 DNA 的扩增结果

Fig. 1 PCR amplified results from healthy and trichophagia minks DNA using A20 primer



1~5. 食毛水貂; 6~10. 健康水貂; M. DNA 相对分子质量标准 DL2000

1-5. The trichophagia minks; 6-10. The healthy minks; M. DL2000 marker

图 2 S139 随机引物对健康和食毛水貂 DNA 的扩增结果

Fig. 2 PCR amplified results from healthy and trichophagia minks DNA using S139 primer

2.2 A20-1000 和 S139-400 特异 DNA 片段的测序结果

经北京六合华大基因科技股份有限公司测定,水貂 A20-1000 基因序列的长度为 1 148 bp, S139-400 基因序列的长度为 421 bp(图 3,图 4)。将所测序列通过 GenBank 中的 Blast 序列比较分析,结果 A20-1000 扩增序列与人的免疫球蛋白超基因家族 4(IGSF4)的同源性为 65%,根据所测序列设计 1 对可扩增 757 bp 的 SCAR 标记引物,在 2 组(健康与患病)水貂个体中分别进行验证。S139-400 扩增序

列与人的 *FHL2* 基因序列的同源性达 96%。根据所测序列设计 1 对可扩增 230 bp 的 SCAR 标记引物,在 2 组(健康与患病)水貂个体中分别进行验证。

2.3 SCAR 特异引物 PCR 扩增结果

2.3.1 SCAR-A20 特异引物在健康和食毛水貂个体基因组中的扩增结果 用 SCAR-A20 引物对健康和食毛水貂进行特异性扩增,扩增结果如图 5 所示。引物 SCAR-A20 在 259 只食毛水貂中有 225 个个体能扩增出约 750 bp 的条带(SA20-757),而在健康水貂群体中仅有 71 个个体扩增出目的条带。

卡方检验结果表明(表 1), SA20-757 在健康和食毛 群体之间的组成比例差异极显著($P < 0.001$)。

GTTGCGATCCAACAATCAAATGAAATAGGCAATAAGATCTTTTTTTTTTTTTTTTAAAGATTTGTTT
 TTAGAGAGAGAGAGAGAATGGAGGTGGGGGAGAAGCAGAGGGAGAGAGAATCCTCAGACTCCCCT
 GCTGAACGCAGAGCCGGATACAGGGCCTGAAATCAAGAGT**CGGATGCCTAATTGACTGAGCCACC**
 AGGTGCCCCAATCTACTTTTTCAAATGAGGACATGAAGGCCAAACACGTGCATTGGTCCCCATTAGG
 ATGTAAAGGACCCAGGCAGCAAACCTGGCCAGTATGCAGTACAGGCTTCCTTTCCTCACAGCATCCA
 AAGTGTCTCAAACCTTCAACCAGAACACCTCTGACGCCAGCAGAGTGGGAATTGCTGAATGCACTCAG
 GGTCTTAAGACCTAGCCAGAGTACAGCATATGGCCAACCTTAAAATGTTAATGTCCATTTACATTCTA
 TTCTACGCGGTAATATAGTTATGGTTTTTAAATTTTTTCTCCAAGCTTCCAGTGAAACTGACATACCAA
 AATGTGTAGCAAGTGTATCTATGCTAGTTTAAAGGGACTATGTGACGCCACCGTATCCGTTAAAAAGAC
 AGAACACACATATGGCCAATGAACCAAAGCCCTTATGGAGCAGCAGGACCAACAAGGAGAAATGAG
 GACAGTACGCACTGAACCCCATTCCTTGGAGAGTATTCTCGGCCTTGCTCAAAGAAGAGAATTATGA
 GCCGGCTATTTTTAAGTGAGGAATTAGAAATGGCTACAAAAGAGAATGAGGTATTCAAATTGGAAGAAA
 AAAAAAATGACAGATGCTAAGAAATCTCAGAAATAGGGTAAAGGCTACCCAGCACTGGGAAAGAA
 GTACGTAGAACTGGCTATGCAGAGGGCAGGGATTCCCA**AGCAAGAAAGCACCCGAAGG**ACTTGTTA
 CACGCACACAGCTTGCTCTCCATCCCACGGACCCCATCAAGTTTCCAATCCACAGGTCTAGAGTGAG
 ACCCGAGAATTTGCATTGCTGAGTATTCCAGGAGATGCTGATGCTGCTGGCTTGAGTACCATGCTCGC
 TCGATGTGTTTCAGGGGAATCAGAGGAGGGAGGGAGCAGGTCCACCTGCAGAGGGCCGGAGGATC
GCAAC

下划线部分为引物 A20 序列;字体加粗部分为 SCAR 标记引物序列

The parts underlined show the sequence of the primer A20; the parts in which the letters are bold show the primer of SCAR marker

图 3 A20-1000 特异片段的全序列

Fig. 3 The whole sequence of the idio-fragment A20-1000

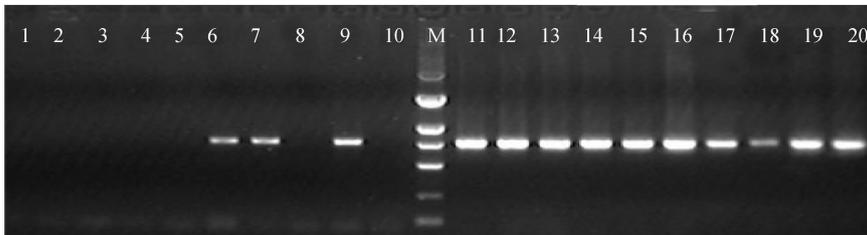
CCTCTAGACCTGAGAAGAGCCAGTTTTTCAGTTTGAGTCTGAAGCAAGAGAGAAAAGATCAA
GCAGCCAGCCAGAGAAGTCCTTGCTCATTAGCTTTTCTGTTCTATTACATCTTCAACTGATTGTAC
 GGGGCCCACTGTATTAGGGAGGGCCCTCTGCTTTACTCTGTCTACTAACTGAAATGGGAATCACATCC
 AGAAACACACTCACAGACACATACAATCAACGTGACACATAAAATTAACCATCCACTCTCATATACA
ACATGGCTGAATCT**TGAGG**CTGTTATGCTAAGTAGAATAAGCCAGTCATCGAAGGAAAAATAATTA
 TGATTCCACTGACTAGAGGCATCTGAAGTTGTAAAAATCACTGAAGCAGAAGGTAGAAACAATATTTGC
CAGAGGTTGGGTCTAGAGG

下划线部分为引物 S139 序列;字体加粗部分为 SCAR 标记引物序列

The parts underlined show the sequence of the primer S139; The parts in which the letters are bold show the primer of SCAR marker

图 4 S139-400 特异片段的全序列

Fig. 4 The whole sequence of the idio-fragment S139-400



1~10. 健康个体 DNA 扩增产物; 11~20. 食毛个体 DNA 扩增产物; M. DNA 相对分子质量标准 DL2000

1-10. PCR products of healthy individual genomes; 11-20. PCR products of trichophagia individual genomes; M. DL2000 marker

图 5 引物 SCAR-A20 在健康和食毛水貂个体基因组中的部分 PCR 扩增结果

Fig. 5 Partial PCR amplification results by primer SCAR-A20 in the healthy and trichophagia individual genomes

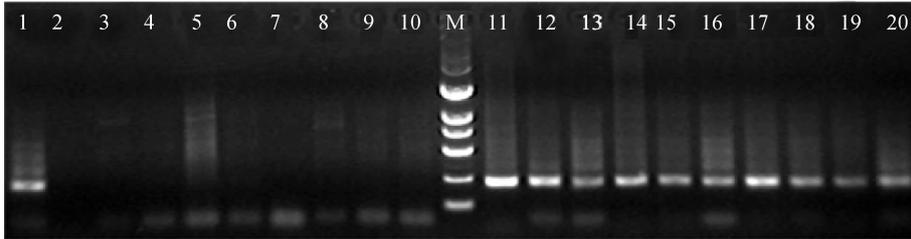
表 1 SA20-757 标记在健康和食毛水貂个体中分布情况

Table 1 Distribution of SA20-757 marker among healthy and trichophagia minks

水貂 Mink	带标记个体比例/% Individuals with SCAR marker	不带标记个体比例/% Individuals without SCAR marker	实际比例 Reality ratio	理论比例 Theoretical ratio	<i>P</i>
健康 Healthy group	27.41(71/259)	72.59(188/259)	71 : 188	148 : 111	<0.001
食毛 Trichophagia group	86.88(225/259)	13.12(34/259)	225 : 34	148 : 111	

2.3.2 SCAR-S139 特异引物在健康和食毛水貂个体基因组中的扩增结果 用 SCAR-S139 引物对健康和食毛水貂进行特异性扩增,扩增结果如图 6 所示。引物 SCAR-S139 在 259 只食毛水貂中有 244 个个体能扩增出了约 250 bp 的条带(MS139-230),而在健康水貂群体中仅有 102 个个体扩增出

目的条带。卡方检验结果表明(表 2),MS139-230 在健康和食毛群体之间的组成比例差异极显著($P < 0.001$)。SA20-757 与 MS139-230 联合分析诊断,特异性条带在患病水貂群体的分布频率高达 95.36%(表 3),均比单个 SCAR 特异引物的扩增比例要高。



1~10. 健康个体 DNA 扩增产物; 11~20. 食毛个体 DNA 扩增产物; M. DNA 相对分子质量标准 DL2000
1-10. PCR products of healthy individual genomes; 11-20. PCR products of trichophagia individual genomes; M. DL2000 marker

图 6 引物 SCAR-S139 在健康和食毛水貂个体基因组中的部分 PCR 扩增结果

Fig. 6 Partial PCR amplification results by primer SCAR-S139 in the healthy and trichophagia individual genomes

表 2 MS139-230 标记在健康和食毛个体水貂中分布情况

Table 2 Distribution of MS139-230 marker among healthy and trichophagia minks

水貂 Mink	带标记个体比例/% Individuals with SCAR marker	不带标记个体比例/% Individuals without SCAR marker	实际比例 Reality ratio	理论比例 Theoretical ratio	χ^2
健康 Healthy group	39.38 (102/259)	60.62 (157/259)	102 : 157	173 : 86	<0.001
食毛 Trichophagia group	94.21 (244/259)	5.79 (15/259)	244 : 15	173 : 86	

表 3 SA20-757 与 MS139-230 标记组合在健康和食毛水貂个体中分布情况

Table 3 Distribution of SA20-757 and MS139-230 marker combination among healthy and trichophagia minks

水貂 Mink	带标记个体比例/% Individuals with SCAR marker			不带标记个体比例/% Individuals without SCAR marker	实际比例 Reality ratio	理论比例 Theoretical ratio	χ^2
	11	10	01				
健康 Healthy group	24.32 (63/259)	9.65 (25/259)	22.39 (58/259)	43.63 (113/259)	63 : 25 : 58 : 113	62.5 : 37.5 : 19 : 140	<0.001
食毛 Trichophagia group	83.78 (217/259)	5.02 (13/259)	6.56 (17/259)	4.63 (12/259)	217 : 13 : 17 : 12	62.5 : 37.5 : 19 : 140	

3 讨论

水貂食毛症的发病机理和影响因素尚不明确,国内外相关研究也很少,一般认为有下列因素:神经质,遗传性,缺乏营养物质,消化机能紊乱,皮肤疾病,药物和毒素,环境条件。总之,食毛症不是单纯的局部病变,而是一种与中枢神经系统功能障碍有关的全身疾病。疾病的发生通常是遗传与环境因素共同作用的结果,而且或多或少存在着2个因素的交互作用。推测在水貂食毛症发生过程中,个体对环境致病因子的易感性起着重要的作用,而这种易感性的遗传基础是基因组的结构差异或表达差异,即可能是多个微效共同作用的多基因疾病。

本研究经克隆测序得到的SA20-1000基因序列与人的免疫球蛋白超基因家族4(IGSF4)的同源性为65%。免疫球蛋白超家族成员4(Immunoglobulin superfamily 4, IGSF4),又名肺癌肿瘤抑制基因1(Tumor suppressor in lung cancer 1, TSLC1),是Gomyo等于1999年发现的一个新基因,属于免疫球蛋白超家族,位于染色体11q23.2,全长大于300 kb,含10个外显子,其转录产物为4.4或1.6 kb长的mRNA前体,翻译生成442个氨基酸残基的与细胞黏附相关的跨膜糖蛋白。IGSF4蛋白含胞外区、跨膜区和胞质区。胞外区包括3个免疫球蛋白样C2型片段,与人神经细胞黏附分子高度同源;跨膜区为一疏水的螺旋;胞质区结构与血型糖蛋白C类似,包括一个蛋白4.1结合模体和一个PDZ结合模体,可能与信号转导有关。

已经证实IGSF4基因甲基化失活与肺癌、肝癌、宫颈癌、胰腺癌、乳腺癌等多种肿瘤的发生及愈后相关。关于IGSF4抑制肿瘤的分子机制目前还不清楚,国内外研究主要集中在细胞黏附方面。研究认为黏附分子性质改变是癌细胞的一种特征,在进展期上皮细胞肿瘤中常常能够观察到黏附分子的改变。TSLC1表达缺失,除了破坏细胞黏附之外,可能转达一种促使肿瘤转移或浸润的信号,这种信号使肿瘤浸润和/或转移到周围或末梢组织,反之,SLC1的正常表达抑制了肿瘤的发生和发展^[1]。

目前的研究表明,IGSF4基因不仅与免疫系统疾病相关,并且与神经系统疾病也相关,脑膜瘤是第二常见的中枢神经系统肿瘤。Surace等^[2]用Western印迹对脑脊膜瘤细胞株和123例脑脊膜瘤中TSLC1基因表达的分析显示,在3种恶性脑脊膜瘤

细胞株中,TSLC1表达缺失。在48%的良性脑脊膜瘤、69%非典型脑脊膜瘤、85%的恶性脑脊膜瘤中TSLC1表达缺失,认为TSLC1的表达缺失与脑脊膜瘤病人的生存有关。Houshmandi等^[3]研究表明:TSLC1在蛋白和RNA水平丢失存在于高级的神经胶质瘤(WHO III/IV),而在低级的(WHO I/II)神经胶质瘤生物上并不存在,这些发现表明TSLC1与神经胶质瘤的恶性进展相关性更大。水貂食毛症的发病原因是否是TSLC1基因异常表达等引起的还有待于进一步深入研究。

所测的MS139-400基因序列的长度为421 bp,扩增序列与人的FHL2基因序列的同源性达96%。FHL(Four and half LIM domains)由4个半LIM结构域组成,目前发现的FHL家族成员包括FHL1、FHL2、FHL3、FHL4和FHL5(ACT),FHL家族蛋白在进化上高度保守,除哺乳动物外,其他低等生物如鱼类、果蝇、蜗牛、线虫等也有其同源蛋白的存在^[4]。FHL2是其中研究最为深入的成员,参与调控基因的表达、信号转导、细胞骨架形成及细胞的黏附和转移,在正常组织的生长发育及肿瘤的发生和发展过程中起十分重要的作用。最近的研究表明FHL2基因与肿瘤有密切关系。

FHL2表达水平升高的肿瘤有卵巢癌、肺癌、肝癌、胃肠道恶性肿瘤、胶质母细胞瘤及黑色素瘤等。Gabriel等^[5]发现卵巢癌上皮细胞FHL2表达水平较正常上皮细胞明显升高,参与肿瘤细胞锚定不依赖生长的酪氨酸激酶pp125FAK与FHL2形成一个蛋白复合物,在人卵巢癌细胞信号转导中发挥作用。Borczuk等^[6]发现FHL2在肺癌细胞核中高表达,而在正常肺组织中无表达,FHL2高水平表达病例生存时间短于较低水平表达病例。Wei等^[7]研究发现,肝癌中FHL2水平显著高于正常肝组织,FHL2可能增强 β -连环蛋白在肿瘤细胞中的活性。Wang等^[8]发现FHL2在胃肠道恶性肿瘤中的表达水平较正常组织上调。

FHL2表达水平下调的肿瘤有乳腺癌、前列腺癌、横纹肌肉瘤,以及淋巴性白血病、早幼粒细胞性白血病、Burkitt's淋巴瘤等血液系统肿瘤。Campo-Fernandez等^[9]发现HPV16的E7癌蛋白能与FHL2结合,破坏FHL2与 β -连环蛋白和FHL2与AP1的转录激活复合物,抑制下游基因的表达,导致细胞恶变,诱发肿瘤的产生。熊志红等^[10]研究表明,FHL2还能通过与其他疾病相关蛋白相互作用,

影响老年前期痴呆症和帕金森症等精神疾病的发病过程。水貂食毛症表现出的行为特征与人的精神性疾病相似,是所处的环境应激引起系统异常而表现的异常现象。因此推断 FLA2 这段可遗传序列里的插入和缺失可能与神经抑制系统机制密切相关,进而导致水貂食毛症的发生。

4 结 论

本试验结果表明健康与食毛水貂在某些遗传基因上存在较明显差异。SA20-757 在食毛和健康水貂群体的分布频率分别为 86.88%和 27.41%,差异极显著($P < 0.001$);MS139-230 在食毛和健康水貂群体的分布频率分别为 94.21%和 39.38%,差异极显著($P < 0.001$)。SA20-757 与 MS139-230 联合分析诊断,特异性条带在患病水貂群体的分布频率高达 95.36%,均比单个 SCAR 特异引物的扩增比例要高,SA20-757 与 MS139-230 联合分析诊断,可以很好的区分健康与食毛水貂群体,可初步作为水貂食毛症早期诊断的分子生物学手段,为进一步研究水貂食毛症奠定了基础。

参考文献:

- [1] 杨爱宏,孙琪,杨永秀. TSLC1 基因的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2009,19(9):1788-1791.
- [2] SURACE E I, LUSIS E, MURAKAMI Y, et al. Loss of tumor suppressor in lung cancer-1 (TSLC1) expression in meningioma correlates with increased malignancy grade and reduced patient survival [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63(10):1015-1027.
- [3] HOUSHMANDI S S, SURACE E I, ZHANG H B,

et al. Tumor suppressor in lung cancer-1 (TSLC1) functions as a glioma tumor suppressor [J]. *Neurology*, 2006, 6(10):1863-1866.

- [4] KADRMAS J L, BECKERLE M C. The LIM domain: from the cytoskeleton to the nucleus [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(11):920-931.
- [5] GABRIEL B, MILDENBERGER S, WEISSER C W, et al. Focal adhesion kinase interacts with the transcriptional coactivator FHL2 and both are overexpressed in epithelial ovarian cancer [J]. *Anticancer Res*, 2004, 24(2B):921-928.
- [6] BORCZUK A C, SHAH L, PEARSON G D, et al. Molecular signatures in biopsy specimens of lung cancer [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170(2):167-174.
- [7] WEI Y, RENARD C A, LABALETTE C, et al. Identification of the LIM protein FHL2 as a coactivator of beta-catenin [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(7):5188-5194.
- [8] WANG J, YANG Y, XIA H H, et al. Suppression of FHL2 expression induces cell differentiation and inhibits gastric and colon carcinogenesis [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(3):1066-1076.
- [9] CAMPO-FERNANDEZ B, MORANDELL D, SANTER F R, et al. Identification of the FHL2 transcriptional coactivator as a new functional target of the E7 oncoprotein of human papillomavirus type16 [J]. *J Virol*, 2007, 81(2):1027-1032.
- [10] 熊志红,孙启鸿,叶棋浓. FHL2 蛋白的研究进展[J]. 军事医学科学院院刊,2007,31(4):376-379.

(编辑 郭云雁)