



中华人民共和国国家标准

GB 14923—2010
代替 GB 14923—2001

实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制

Laboratory animal—
Genetic quality control of mammalian laboratory animals

2010-12-23 发布

2011-10-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的第3章(举例内容除外)、4.1.1、4.1.2、4.2.1、4.2.2、4.2.3、5.1、5.3为强制性的,其余为推荐性的。

本标准代替GB 14923—2001《实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制》。

本标准与GB 14923—2001相比,主要变化如下:

- a) 增加了染色体置换系、核转移系等特殊近交系的内容,与国际上最新版本的权威文件一致;
- b) 增加了对遗传修饰动物的说明;
- c) 对封闭群动物提出了检测要求;
- d) 补充了杂交群的繁殖方法;
- e) 对附录进行了修订。

本标准附录A为规范性附录,附录B、附录C为资料性附录。

本标准由全国实验动物标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位:全国实验动物标准化技术委员会。

本标准主要起草人:岳秉飞、高翔、鲍世民、张连峰、邢瑞昌。

本标准于1994年1月首次发布,2001年8月第一次修订。

实验动物

哺乳类实验动物的遗传质量控制

1 范围

本标准规定了哺乳类实验动物的遗传分类及命名原则、繁殖交配方法和近交系动物的遗传质量标准。

本标准适用于哺乳类实验动物的遗传分类、命名、繁殖及近交系小鼠、大鼠的遗传纯度检测。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

近交系 **inbred strain**

在一个动物群体中,任何个体基因组中 99% 以上的等位位点为纯合时定义为近交系。

经典近交系经至少连续 20 代的全同胞兄妹交配培育而成。品系内所有个体都可追溯到起源于第 20 代或以后代数的一对共同祖先。

经连续 20 代以上亲子交配与全同胞兄妹交配有等同效果。近交系的近交系数 (inbreeding coefficient) 应大于 99%。

2.2

亚系 **substrain**

一个近交系内各个分支的动物之间,因遗传分化而产生差异,称为近交系的亚系。

2.3

重组近交系 **recombinant inbred strain**

RI

由两个近交系杂交后,经连续 20 代以上兄妹交配育成的近交系。

2.4

重组同类系 **recombinant congenic strain**

RC

由两个近交系杂交后,子代与两个亲代近交系中的一个近交系进行数次回交(通常回交 2 次),再经不对特殊基因选择的连续兄妹交配(通常大于 14 代)而育成的近交系。

2.5

同源突变近交系 **coisogenic inbred strain**

除了在一个特定位点等位基因不同外,其他遗传基因全部相同的两个近交系。

一般由近交系发生基因突变或者人工诱变(如基因剔除)形成。用近交代数表示出现突变的代数,如 F110+F23,是近交系在 110 代出现突变后近交 23 代。

2.6

同源导入近交系 **congenic inbred strain**

同类近交系

通过回交(backcross)方式形成的一个与原来的近交系只是在一个很小的染色体片段上有所不同的新的近交系。

要求至少回交 10 个世代,供体品系的基因组占基因组总量在 0.01 以下。

2.7

染色体置换系 consomic strains or chromosome substitution strains

为把某一染色体全部导入到近交系中,反复进行回交而育成的近交系。与同类系相同,将 F1 作为第 1 个世代,要求至少回交 10 个世代。

2.8

核转移系 conplastic strains

将某个品系的核基因组移到其他品系细胞质而培育的品系。

2.9

混合系 mixed inbred strains

由两个亲本品系(其中一个是重组基因的 ES 细胞株)混合制作的近交系。

2.10

互交系 advanced intercross lines

两个近交系间繁殖到 F₂,采取避免兄妹交配的互交所得到的多个近交系。由于其较高的相近基因位点间的重组率而被应用于突变基因的精细定位分析。

2.11

遗传修饰动物 genetic modified animals

经人工诱发突变或特定类型基因组改造建立的动物。包括转基因动物、基因定位突变动物、诱变动物等。

2.12

封闭群 closed colony

远交群 outbred stock

以非近亲交配方式进行繁殖生产的一个实验动物种群,在不从外部引入新个体的条件下,至少连续繁殖 4 代以上的群体。

2.13

杂交群 hybrids

由两个不同近交系杂交产生的后代群体。子一代简称 F₁。

3 实验动物的遗传分类及命名

3.1 遗传分类

根据遗传特点的不同,实验动物分为近交系、封闭群和杂交群。

3.2 命名

3.2.1 近交系

3.2.1.1 命名

近交系一般以大写英文字母命名,亦可以用大写英文字母加阿拉伯数字命名,符号应尽量简短。如 A 系、TA1 系等。

3.2.1.2 近交代数

近交系的近交代数用大写英文字母 F 表示。例如当一个近交系的近交代数为 87 代时,写成(F87)。如果对以前的代数不清楚,仅知道近期的近交代数为 25,可以表示为(F? +25)。

3.2.1.3 亚系的命名

亚系的命名方法是在原品系的名称后加一道斜线,斜线后标明亚系的符号。

亚系的符号可以是以下几种:

a) 培育或产生亚系的单位或个人的缩写英文名称,第一个字母用大写,以后的字母用小写。使用

缩写英文名称应注意不要和已公布过的名称重复。例如:A/He,表示 A 近交系的 Heston 亚系;CBA/J,由美国杰克逊研究所保持的 CBA 近交系的亚系;

- b) 当一个保持者保持的一个近交系具有两个以上的亚系时,可在数字后再加保持者的缩写英文名称来表示亚系。如:C57BL/6J,C57BL/10J 分别表示由美国杰克逊研究所保持的 C57BL 近交系的两个亚系;
- c) 一个亚系在其他机构保种,形成了新的群体,在原亚系后加注机构缩写。如:C3H/HeH 是由 Hanwell(H)保存的 Heston(He)亚系;
- d) 作为以上命名方法的例外情况是一些建立及命名较早,并为人们所熟知的近交系,亚系名称可用小写英文字母表示,如 BALB/c、C57BR/cd 等。

3.2.1.4 重组近交系和重组同类系命名

3.2.1.4.1 重组近交系的命名

在两个亲代近交系的缩写名称中间加大写英文字母 X 命名。相同双亲交配育成的一组近交系用阿拉伯数字予以区分,雌性亲代在前,雄性亲代在后。

示例:

由 BALB/c 与 C57BL 两个近交系杂交育成的一组重组近交系,分别命名为 CXB1、CXB2……

如果雄性亲代缩写为数字,如 CX8,为区分不同 RI 组,则用连接符表示为 CX8-1、CX8-2……

常用近交系小鼠的缩写名称如下:

近交系	缩写名称
C57BL/6	B6
BALB/c	C
DBA/2	D2
C3H	C3
CBA	CB

3.2.1.4.2 重组同类系的命名

在两个亲代近交系的缩写名称中间加小写英文字母 c 命名,用其中做回交的亲代近交系(称受体近交系)在前,供体近交系在后。相同双亲育成的一组重组同类系用阿拉伯数字予以区分。如 CcS1,表示以 BALB/c(C)为亲代受体近交系,以 STS(S)品系为供体近交系,经 2 代回交育成的编号为 1 的重组同类系。

同样,如果雄性亲代缩写为数字,如 Cc8,为区分不同 RC 组,则用连接符表示为 Cc8-1。

3.2.1.5 同源突变近交系的命名

在发生突变的近交系名称后加突变基因符号(用英文斜体印刷体)组成,二者之间以连接号分开,如:DBA/Ha-*D*,表示 DBA/Ha 品系突变基因为 *D* 的同源突变近交系。

当突变基因必须以杂合子形式保持时,用“+”号代表野生型基因,如:A/Fa-*+*/c。

129S7/SvEvBrd-*Fyn*^{tm1Sor}表示用来源 129S7/SvEvBrd 品系的 AB1 ES 细胞株制作的 *Fyn* 基因变异的同源突变系。

3.2.1.6 同源导入近交系(同类近交系)

同源导入系名称由以下几部分组成:

- a) 接受导入基因(或基因组片段)的近交系名称;
- b) 提供导入基因(或基因组片段)的近交系的缩写名称,并与 a 之间用英文句号分开;
- c) 导入基因(或基因组片段)的符号(用英文斜体),与 b 之间以连字符分开;
- d) 经第三个品系导入基因(或基因组片段)时,用括号表示;
- e) 当染色体片段导入多个基因(或基因组片段)或位点,在括号内用最近和最远的标记表示出来。

示例:

B10.129-*H-12b* 表示该同源导入近交系的遗传背景为 C57BL/10sn(即 B10),导入 B10 的基因为 *H-12b*,基因提供者 129/J 近交系。

C.129P(B6)-*Il2tm1Hor* 经过第三个品系 B6 导入的。

B6.Cg-(*D4Mit25-D4Mit80*)/Lt 导入的片段标记为 *D4Mit25-D4Mit80*。

3.2.1.7 染色体置换系的命名

表示方法为 HOST STRAIN-Chr #^{DONOR STRAIN},如 C57BL/6J-Chr 19^{SPR}为 *M. spretus* 的第 19 染色体回交于 B6 的染色体置换系。

3.2.1.8 核转移系的命名

命名方法为 NUCLEAR GENOME-*mt*^{CYTOPLASMIC GENOME},如: C57BL/6J-*mt*^{BALB/c}指带有 C57BL/6J 核基因组和 BALB/c 细胞质的品系。这样的品系是以雄的 C57BL/6J 小鼠和雌的 BALB/c 小鼠交配,子代雌鼠与 C57BL/6J 雄鼠反复回交 10 代而成。

3.2.1.9 混合系的命名

3.2.1.9.1 两个品系缩写之间用分号,如: B6;129-*Acvr2*^{tm1Zuk} 为 C57BL/6J 和敲除 *Acvr2* 基因的 129ES 细胞株制作的品系。

3.2.1.9.2 由两个以上亲本品系制作的近交系,或者受不明遗传因素影响的突变系,作为混合系,用 STOCK 空格后加基因或染色体异常来表示,如 STOCK Rb(16.17)5Bnr 为具有 Rb(16.17)5Bnr 的、含有未知或复杂遗传背景的混合系。

3.2.1.10 互交系的命名

由实验室缩写编码:母系亲本,父系亲本-G #表示。如 Pri: B6, D2-G # 为 Princeton 研究所用 C57BL/6J 和 DBA/2 制作的互交品系,G # 表示自 F2 后交配的代数。

3.2.1.11 遗传修饰动物的命名

遗传修饰动物包括转基因、基因定位突变、诱变等动物,属于特殊近交系,其命名见附录 A。

3.2.2 封闭群(远交群)的命名

封闭群由 2 个~4 个大写英文字母命名,种群名称前标明保持者的英文缩写名称,第一个字母须大写,后面的字母小写,一般不超过 4 个字母。保持者与种群名称之间用冒号分开。

示例:

N:NIH 表示由美国国立卫生研究院(N)保持的 NIH 封闭群小鼠。

Lac:LACA 表示由英国实验动物中心(Lac)保持的 LACA 封闭群小鼠。

某些命名较早,又广为人知的封闭群动物,名称与上述规则不一致时,仍可沿用其原来的名称。如:Wistar 大鼠封闭群,日本的 ddy 封闭群小鼠等。

把保持者的缩写名称放在种群名称的前面,而二者之间用冒号分开,是封闭群动物与近交系命名中最显著的区别。除此之外,近交系命名中的规则及符号也适用于封闭群动物的命名。

3.2.3 杂交群的命名

杂交群应按以下方式命名:以雌性亲代名称在前,雄性亲代名称居后,二者之间以大写英文字母“X”相连表示杂交。将以上部分用括号括起,再在其后标明杂交的代数(如 F1、F2 等)。

对品系或种群的名称常使用通用的缩写名称。

示例:

(C57BL/6 X DBA/2)F1=B6D2F1

B6D2F2:指 B6D2F1 同胞交配产生的 F2;

B6(D2AKRF1):是 B6 为母本,与(DBA/2 X AKR/J)的 F1 父本回交所得。

4 实验动物的繁殖方法

4.1 近交系动物的繁殖方法

4.1.1 原则

选择近交系动物繁殖方法的原则是保持近交系动物的同基因性及其基因纯合性。

4.1.2 引种

作为繁殖用原种的近交系动物必须遗传背景明确,来源清楚,有较完整的资料(包括品系名称、近交代数、遗传基因特点及主要生物学特征等)。引种动物应来自近交系的基础群(foundation stock)。

4.1.3 近交系动物的繁殖

分为基础群(foundation stock)、血缘扩大群(pedigree expansion stock)和生产群(production stock)。当近交系动物生产供应数量不是很大时,一般不设血缘扩大群,仅设基础群和生产群。

4.1.4 基础群

4.1.4.1 设基础群的目的,一是保持近交系自身的传代繁衍,二是为扩大繁殖提供种动物。

4.1.4.2 基础群严格以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。

4.1.4.3 基础群应设动物个体记录卡(包括品系名称、近交代数、动物编号、出生日期、双亲编号、离乳日期、交配日期、生育记录等)和繁殖系谱。

4.1.4.4 基础群动物不超过5代~7代都应能追溯到一对共同祖先。

4.1.5 血缘扩大群

4.1.5.1 血缘扩大群的种动物来自基础群。

4.1.5.2 血缘扩大群以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。

4.1.5.3 血缘扩大群动物应设个体繁殖记录卡。

4.1.5.4 血缘扩大群动物不超过5代~7代都应能追溯到其在基础群的一对共同祖先。

4.1.6 生产群

4.1.6.1 设生产群的目的是生产供应实验用近交系动物,生产群种动物来自基础群或血缘扩大群。

4.1.6.2 生产群动物一般以随机交配方式进行繁殖。

4.1.6.3 生产群动物应设繁殖记录卡。

4.1.6.4 生产群动物随机交配繁殖代数一般不应超过4代。

4.2 封闭群动物的繁殖方法

4.2.1 原则

选择封闭群动物繁殖方法的原则是尽量保持封闭群的动物的基因异质性及多态性,避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升。

4.2.2 引种

作为繁殖用原种的封闭群动物必须遗传背景明确,来源清楚,有较完整的资料(包括种群名称、来源、遗传基因特点及主要生物学特性等)。

为保持封闭群动物的遗传异质性及基因多态性,引种动物数量要足够多,小型啮齿类封闭群动物引种数目一般不能少于25对。

4.2.3 繁殖

为保持封闭群动物的遗传基因的稳定,封闭群应足够大,并尽量避免近亲交配。根据封闭群的大小,选用循环交配法等方法进行繁殖。具体方法参见附录B。

4.3 杂交群的繁殖方法

将适龄的雌性亲代品系动物与雄性亲代品系动物杂交,即可得到F1动物。雌雄亲本交配顺序不同,得到的F1动物也不一样。F1动物自繁成为F2动物。除特殊需要外F1动物一般不进行繁殖。

5 近交系动物的遗传质量监测

5.1 近交系动物的遗传质量标准

近交系动物应符合以下要求：

- a) 具有明确的品系背景资料,包括品系名称、近交代数、遗传组成、主要生物学特性等,并能充分表明新培育的或引种的近交系动物符合近交系定义的规定；
- b) 用于近交系保种及生产的繁殖系谱及记录卡应清楚完整,繁殖方法科学合理；
- c) 经遗传检测(生化标记基因检测法,免疫标记基因检测法等)质量合格。

5.2 近交系小鼠、大鼠遗传检测方法及实施

5.2.1 生化标记检测(纯度检测的常规方法)

5.2.1.1 抽样

对基础群,凡在子代留有种鼠的双亲动物都应进行检测。

对生产群,按表 1 要求从每个近交系中随机抽取成年动物,雌雄各半。

表 1

生产群中雌性种鼠数量	抽样数目
100 只以下	6 只
100 只以上	≥6%

5.2.1.2 生化标记基因的选择及常用近交系动物的生化遗传概貌

近交系小鼠选择位于 10 条染色体上的 14 个生化位点,近交系大鼠选择位于 6 条染色体上的 11 个生化位点,作为遗传检测的生化标记。以上生化标记基因的名称及常用近交系动物的生化标记遗传概貌参见附录 C。

5.2.1.3 结果判断

见表 2。

表 2

检测结果	判断	处理
与标准遗传概貌完全一致	未发现遗传变异,遗传质量合格	—
有一个位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	可疑	增加检测位点数目和增加检测方法后重检,确实只有一个标记基因改变可命名为同源突变系
两个或两个以上位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	不合格	淘汰,重新引种

5.2.2 免疫标记检测

5.2.2.1 皮肤移植法:每个品系随机抽取至少 10 只相同性别的成年动物,进行同系异体皮肤移植。移植全部成功者为合格,发生非手术原因引起的移植物的排斥判为不合格。

5.2.2.2 微量细胞毒法:按照 5.2.1.1 的抽样数量检测小鼠 H-2 单倍型,结果符合标准遗传概貌的为合格,否则为不合格。

5.2.3 其他方法

除以上两种方法外,还可选用其他方法进行遗传质量检测,如毛色基因测试(coat color gene testing)、下颌骨测量法(mandible measurement)、染色体标记检测(chromosome markers testing)、DNA 多态性检测法(DNA polymorphisms)、基因组测序法(genomic sequence)等。

5.3 检测时间间隔

近交系动物生产群每年至少进行一次遗传质量检测。

6 封闭群动物的遗传质量监测

6.1 封闭群动物的遗传质量标准

封闭群动物应符合以下要求：

- a) 具有明确的遗传背景资料,来源清楚,有较完整的资料(包括种群名称、来源、遗传基因特点及主要生物学特性等);
- b) 用于保种及生产的繁殖系谱及记录卡应清楚完整,繁殖方法科学合理;
- c) 封闭繁殖,保持动物的基因异质性及多态性,避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升;
- d) 经遗传检测(生化标记基因检测法,DNA 多态性分析等)基因频率稳定,下颌骨测量法(mandible measurement)判定为相同群体。

6.2 封闭群动物小鼠、大鼠遗传检测方法及实施

6.2.1 生化标记基因检测(多态性检测)

6.2.1.1 抽样

随机抽取雌雄各 25 只以上动物进行基因型检测。

6.2.1.2 生化标记基因的选择

选择代表种群特点的生化标记基因,如小鼠选择位于 10 条染色体上的 14 个生化位点,大鼠选择位于 6 条染色体上的 11 个生化位点,作为遗传检测的生化标记。

6.2.1.3 群体评价

按照哈代-温伯格(Hardy-Weinberg)定律,无选择的随机交配群体的基因频率保持不变,处于平衡状态。根据各位点的等位基因数计算封闭群体的基因频率,进行 χ^2 检验,判定是否处于平衡状态。处于非平衡状态的群体应加强繁殖管理,避免近交。

6.2.2 其他方法

除以上方法外,还可选用其他方法进行群体遗传质量检测,如下颌骨测量法(mandible measurement)、DNA 多态性检测法(DNA polymorphisms)以及统计学分析法等。统计项目包括生长发育、繁殖性状、血液生理和生化指标等多种参数,通过连续监测把握群体的正常范围。

6.3 检测时间间隔

封闭群动物每年至少进行一次遗传质量检测。

7 杂交群动物的遗传质量监测

由于 F1 动物遗传特性均一,不进行繁殖而直接用于试验,一般不对这些动物进行遗传质量监测,需要时参照近交系的检测方法进行质量监测。

附 录 A
(规范性附录)
遗传修饰动物

A.1 分类与定义

遗传修饰动物是指经人工诱发突变或特定类型基因组改造建立的动物。主要分为转基因、基因定位突变、诱发突变动物等。以小鼠为例定义如下：

示例 1:转基因小鼠(transgenic mouse)

通过非同源重组(比如,原核显微注射)、逆转录病毒感染插入或者同源插入等方法,把一个外源 DNA 片断整合或者插入到目的小鼠的基因组中形成的小鼠。

示例 2:基因定位突变小鼠(mouse with targeted mutations)

把外源性 DNA 或内源性的基因通过同源重组的方法介导基因破坏、置换或者重复到目的小鼠的基因组内建立的小鼠。具体步骤主要包括首先在胚胎干细胞内实现定位突变,然后将经过遗传修饰的胚胎干细胞注射进宿主 8-细胞囊胚期的胚胎中。注射完成后的胚胎移植到假孕宿主母鼠体内,产生嵌合鼠。如果生殖系配子带有定位突变,嵌合鼠和野生型鼠交配后可以在子代得到杂合的突变鼠。

示例 3:诱变小鼠(mouse with induced mutations)

指使用各种化学、物理及生物试剂等,比如乙基亚硝基脲(ethylnitrosourea, ENU)、X-射线、DNA 载体和跳跃子(transposon)等处理小鼠或小鼠胚胎干细胞,造成携带突变生殖细胞的小鼠,通过遗传培育最终建立携带突变的小鼠品系。

A.2 命名

A.2.1 转基因动物命名

转基因动物的命名遵循以下原则:背景品系加连接符加转基因符号。

符号:一个转基因符号由以下三部分组成,均以罗马字体表示:

TgX (YYYYYY) # # # # # Zzz,

其中各部分符号表示含意为:

TgX = 方式(mode)

(YYYYYY)=插入片段标示(insert designation)

= 实验室指定序号 (laboratory-assigned number)及

Zzz = 实验室注册代号(laboratory code)

以上各部分具体含意及表示如下:

a) 方式:

转基因符号通常冠以 Tg 字头,代表转基因(transgene)。随后的一个字母(X)表示 DNA 插入的方式:H 代表同源重组,R 代表经过逆转录病毒载体感染的插入,N 代表非同源插入。

b) 插入片段标示:

插入片段标示是由研究者确定的表明插入基因显著特征的符号。通常由放在圆括号内的字符组成:可以是字母(大写或小写),也可由字母与数字组合而成,不用斜体字、上标、下标、空格及标点等符号。研究者在确定插入标示时,应注意以下几点:

标示应简短,一般不超过六个字符。

如果插入序列源于已经命名的基因,应尽量在插入标示中使用基因的标准命名或缩写,但基因符号中的连字符应省去。

确定插入片段指示时,推荐使用一些标准的命名缩写,目前包括:

An	匿名序列
Ge	基因组
Im	插入突变
Nc	非编码序列
Rp	报告基因
Sn	合成序列
Et	增强子捕获装置
Pt	启动子捕获装置

插入片断标示只表示插入的序列,并不表明其插入的位置或表型。

c) 实验室指定序号及实验室注册代号:

实验室指定序号是由实验室对已成功的转基因系给予的特定编号,最多不超过 5 位数字。而且,插入片断标示的字符与实验室指定序号的数字位数之和不能超过 11。

实验室注册代号是对从事转基因动物研究生产的实验室给予的特定符号。

示例:

C57BL/6J-TgN(CD8Ge)23Jwg 来源于美国杰克逊研究所(J)的 C57BL/6 品系小鼠被转入人的 CD8 基因组(Ge);转基因在 Jon W. Gordon(Jwg)实验室完成,获取于一系列显微注射后得到的序号为 23 的小鼠。

TgN(GPDHIm)1Bir 是以人的甘油磷酸脱氢酶基因(GPDH)插入(C57BL/6J X SJL/J)F1 代雌鼠的受精卵中,并引起插入突变(Im),这是 Edward H. Birkenmeier(Bir)实验室命名的第一只转基因小鼠。

根据转基因动物命名的原则,如果转基因动物的遗传背景是由不同的近交系或封闭群之间混合而成时,则该转基因符号应不使用动物品系或种群的名称。

转基因符号的缩写:

转基因符号可以缩写,即去掉插入片断标示部分,例如 TgN(GPDHIm)1Bir 可缩写为 TgN 1 Bir。一般在文章中第一次出现时使用全称,以后再出现时可使用缩写名称。

A.2.2 基因定位突变动物的命名

原则:背景品系-基因名tm[实验室序号][实验室代号]

其中 tm 为定位突变基因。

例如基因敲出 129X1-Cftr^{tm1Unc}为北卡大学(unc)利用 129 X1 小鼠第一个做出的囊性纤维化 Cftr 基因敲出小鼠。

基因敲入 129X1-En1^{tm1(Otx2)Wrst}为 W. Wurst laboratory 利用 129 X1 小鼠第一个做出的用 Otx2 基因替代 En1 的小鼠。

A.2.3 诱变动物的命名

参考本标准第 3 章进行命名。

A.3 鉴定与质量控制

A.3.1 转基因动物

A.3.1.1 阳性动物的鉴定

通过 PCR、DNA 印迹等检测方法确认阳性基因在子代动物中表达。经鉴定为阳性的小鼠成为首建鼠(founder)。

A.3.1.2 建系

将首建鼠与野生型小鼠交配,检测子代阳性鼠,将阳性纯合鼠同胞交配即可建系。纯合子小鼠繁殖困难的可选择杂合子进行繁殖建系。

A. 3. 1. 3 外源基因的表达鉴定

外源基因的稳定表达是转基因成功的关键环节之一,采用 RT-PCR、Northern 杂交等方法确认外源基因的表达。明确表达的靶器官、表达水平。

A. 3. 1. 4 质量控制

在建系过程需要检测每代阳性鼠,确认转入基因在后代中稳定遗传。

选择纯合子或杂合子交配的方式进行繁殖,同时检测靶器官表达水平,确保转基因的稳定表达和遗传。

A. 3. 2 基因定位突变动物

通过分子生物学技术(Southern bolt,PCR 或测序等)检测纯合子或杂合子小鼠靶位点突变,选用纯合子或杂合子进行建系繁殖,确立突变品系。

A. 3. 3 诱变动物

通过检测动物的突变位点,建系得到稳定遗传的品系。

附 录 B
(资料性附录)
实验动物封闭群的繁殖方法

B.1 基本要求

保持封闭群条件,无选择,以非近亲交配方式进行繁殖,每代近交系数上升不超过百分之一。

B.2 方法的选择

B.2.1 封闭群的种群大小、选种方法及交配方法是影响封闭群的繁殖过程中近交系数上升的主要因素,应根据种群的大小,选择适宜的繁殖交配方法。

B.2.2 当封闭群中每代交配的雄种动物数目为 10 只~25 只时,一般采用最佳避免近交法,也可采用循环交配法。

B.2.3 当封闭群中每代交配的雄种动物数目为 26 只~100 只时,一般采用循环交配法,也可采用最佳避免近交法。

B.2.4 当封闭群中每代交配的雄种动物数目多于 100 只时,一般采用随选交配法,也可采用循环交配法。

B.3 交配方法**B.3.1 最佳避免近交法****B.3.1.1 留种**

每只雄种动物和每只雌种动物,分别从子代各留一只雄性动物和雌性动物,作为繁殖下一代的种动物。

B.3.1.2 交配

动物交配时,尽量使亲缘关系较近的动物不配对繁殖,编排方法尽量简单易行。

对某些动物品种,如小鼠,大鼠等,生殖周期较短,易于集中安排交配,可按下述方法编排配对进行繁殖:假设一个封闭群有 16 对种动物,分别标以笼号 1、2、3、……、16。设 n 为繁殖代数(n 为自 1 开始的自然数)。 n 代所生动物与 $n+1$ 代交配编排见表 B.1。

表 B.1 最佳避免近交法的交配编排

$n+1$ 代笼号	雌种来自 n 代笼号	雄种来自 n 代笼号
1	1	2
2	3	4
3	5	6
……	……	……
8	15	16
9	2	1
10	4	3
……	……	……
16	16	15

某些动物品种:如狗、猫、家兔等,生殖周期较长,难于按上述方式编排交配。只要保持种群规模不低于10只雄种,20只雌种的水平,留种时每只雌、雄种各留一只子代雌、雄动物作种,交配时尽量避免近亲交配,则可以把繁殖中每代近交系数的上升控制在较低的程度。

B.3.2 循环交配法

B.3.2.1 应用范围

循环交配法广泛适用于中等规模以上的实验动物封闭群,其优点一是可以避免近亲交配,二是可以保证种动物对整个封闭群有比较广泛的代表性。

B.3.2.2 实施办法

B.3.2.2.1 将封闭群划分成若干个组,每组包含有多个繁殖单位(一雄一雌单位,一雄二雌单位,一雄多雌单位等)。

B.3.2.2.2 安排各组之间以系统方法进行交配。

示例:一封闭群每代有48笼繁殖用种动物(一雄种一雌种,或一雄种多雌种)。先将其分成8个组,每组有6笼。各组内随机选留一定数量的种动物,然后在各组之间按以下排列方法进行交配(见表B.2):

表 B.2 循环交配法组间交配编排

新组编号	雄种动物原组编号	雌种动物原组编号
1	1	2
2	3	4
3	5	6
4	7	8
5	2	1
6	4	3
7	6	5
8	8	7

B.3.3 随选交配法

B.3.3.1 应用范围

当封闭群的动物数量非常多(繁殖种动物在100个繁殖单位以上),不易用循环交配法进行繁殖时,可用随选交配法。

B.3.3.2 实施办法

从整个种群中随机选取种动物,然后任选雌雄种动物交配繁殖。

附录 C

(资料性附录)

常用近交系小鼠、大鼠的遗传标记基因

C.1 常用近交系小鼠的遗传标记基因,见表 C.1。

表 C.1 常用近交系小鼠的遗传标记基因

遗传标记			主要近交系小鼠的标记基因				
生化位点	染色体	中文名称	A	AKR	C3H/He	C57BL/6	CBA/J
<i>Akp1</i>	1	碱性磷酸酶-1	b	b	b	a	a
<i>Car2</i>	3	碳酸酐酶-2	b	a	b	a	b
<i>Ce2</i>	17	过氧化氢酶-2	a	b	b	a	b
<i>Es1</i>	8	酯酶-1	b	b	b	a	b
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	c	c	c	a	c
<i>Es10</i>	14	酯酶-10	a	b	b	a	b
<i>Gpd1</i>	4	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1	b	b	b	a	b
<i>Gpi1</i>	7	葡萄糖磷酸异构酶-1	a	a	b	b	b
<i>Hbb</i>	7	血红蛋白β链	d	d	d	s	d
<i>Idh1</i>	1	异柠檬酸脱氢酶-1	a	b	a	a	b
<i>Mod1</i>	9	苹果酸酶-1	a	b	a	b	b
<i>Pgml</i>	5	磷酸葡萄糖变位酶-1	a	a	b	a	a
<i>Pep3</i>	1	肽酶-3	b	b	b	a	b
<i>Trf</i>	9	转铁蛋白	b	b	b	b	a
<i>H-2D</i>	17	组织相容性抗原-2D	—	k	k	b	k
<i>H-2K</i>	17	组织相容性抗原-2K	—	k	k	b	k

遗传标记			主要近交系小鼠的标记基因					
生化位点	染色体	中文名称	BALB/c	DBA/1	DBA/2	TA1/TM	TA2	615
<i>Akp1</i>	1	碱性磷酸酶-1	b	a	a	b	b	a
<i>Car2</i>	3	碳酸酐酶-2	b	a	b	b	a	a
<i>Ce2</i>	17	过氧化氢酶-2	a	b	a	b	b	b
<i>Es1</i>	8	酯酶-1	b	b	b	a	b	b
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	a	c	c	a	c	c
<i>Es10</i>	14	酯酶-10	a	b	b	b	a	a
<i>Gpd1</i>	4	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1	b	a	b	b	b	b
<i>Gpi1</i>	7	葡萄糖磷酸异构酶-1	a	a	a	a	b	a
<i>Hbb</i>	7	血红蛋白β链	d	d	d	s	d	s
<i>Idh1</i>	1	异柠檬酸脱氢酶-1	a	b	b	a	a	a
<i>Mod1</i>	9	苹果酸酶-1	a	a	a	b	b	b

表 C.1 (续)

遗传标记			主要近交系小鼠的标记基因					
生化位点	染色体	中文名称	BALB/c	DBA/1	DBA/2	TA1/TM	TA2	615
<i>Pgm1</i>	5	磷酸葡萄糖变位酶-1	a	b	b	a	b	b
<i>Pep3</i>	1	肽酶-3	a	b	b	c	b	a
<i>Trf</i>	9	转铁蛋白	b	b	b	b	b	b
<i>H-2D</i>	17	组织相容性抗原-2D	d	q	d	b	b	k
<i>H-2K</i>	17	组织相容性抗原-2K	d	q	d	b	b	k

C.2 常用近交系大鼠的生化标记基因,见表 C.2。

表 C.2 常用近交系大鼠的生化标记基因

遗传标记			主要近交系大鼠的标记基因						
生化位点	染色体	中文名称	ACI	BN	F344	LEW/M	LOU/C	SHR	WKY
<i>Akpl</i>	9	碱性磷酸酶-1	b	a	a	a	a	a	b
<i>Alp</i>	9	血清碱性磷酸酶	b	b	b	b	b	a	b
<i>Csl</i>	2	过氧化氢酶	a	a	a	a	a	b	b
<i>Es1</i>	19	酯酶-1	b	a	a	a	a	a	a
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	a	d	a	d	a	b	d
<i>Es4</i>	19	酯酶-4	b	b	b	b	b	a	b
<i>Es6</i>	8	酯酶-6	b	b	a	a	b	a	a
<i>Es8</i>	19	酯酶-8	b	a	b	b	b	b	a
<i>Es9</i>	19	酯酶-9	a	c	a	c	a	a	c
<i>Es10</i>	19	酯酶-10	a	b	a	a	a	a	b
<i>Hbb</i>	1	血红蛋白	b	a	a	b	a	a	a