catenin signalling [J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(8B): 2448 - 2464.
[7] Kang Q, Song W X, Luo Q, *et al*. A comprehensive analysis of the dual roles of BMPs in regulating adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells [J]. Stem Cells Dev, 2009, 18(4): 545 - 559.
[8] Song B, Estrada K D, Lyons K M. Smad signaling in skeletal development and regeneration[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2009, 20(5/6): 379 - 388.
[9] Gautschi O P, Frey S P, Zellweger R. Bone morphogenetic proteins in clinical applications[J]. ANZ J Surg, 2007, 77(8): 626 - 631.
[10] Knippenberg M, Helder M N, Doulabi B Z, *et al*. Differential effects of bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor-beta1 on gene expression of collagen-modifying enzymes in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Tissue Eng Part A, 2009, 15(8): 2213 - 2225.
[11] Chen L, Jiang W, Huang J, *et al*. Insulin-like growth factor 2 (IGF-2) potentiates BMP-9-induced osteogenic differentiation and bone formation[J]. J Bone Miner Res, 25(11): 2447 - 2459.
[12] Luo J, Tang M, Huang J, *et al*. TGFbeta/BMP type Ⅰ receptors ALK1 and ALK2 are essential for BMP9-induced osteogenic signaling in mesenchymal stem cells[J]. J Biol Chem, 2010, 285(38): 29588 - 29598.
[13] Peng M, Chen S, Fang W, *et al*. Effects of leptin on the expression of alpha1 (Ⅰ) collagen gene in human osteoblast-like MG63 cells [J]. Biochem Cell Biol, 88(4): 683 - 686.
[14] Couchourel D, Aubry I, Delalandre A, *et al*. Altered mineralization of human osteoarthritic osteoblasts is attributable to abnormal type Ⅰ collagen production[J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(5): 1438 - 1450.
[15] Khoshniat S, Bourgine A, Julien M, *et al*. Phosphate-dependent stimulation of MGP and OPN expression in osteoblasts via the ERK1/2 pathway is modulated by calcium[J]. Bone, 2011, 48(4): 894 - 902.
[16] Inkson C A, Ono M, Kuznetsov S A, *et al*. TGF-beta1 and WISP-1/CCN-4 can regulate each other's activity to cooperatively control osteoblast function[J]. J Cell Biochem, 2008, 104(5): 1865 - 1878.
[17] Ehnert S, Baur J, Schmitt A, *et al*. TGF-beta1 as possible link between loss of bone mineral density and chronic inflammation [J]. PLoS One, 2010, 5(11): e14073.
[18] Kuh S U, Zhu Y, Li J, *et al*. Can TGF-beta1 and rhBMP-2 act in synergy to transform bone marrow stem cells to discogenic-type cells? [J]. Acta Neurochir (Wien), 2008, 150(10): 1073 - 1079.
[19] Li B C, Zhang J J, Xu C, *et al*. Treatment of rabbit femoral defect by firearm with BMP-4 gene combined with TGF-beta1 [J]. J Trauma, 2009, 66(2): 450 - 456.

(**收稿**:2013-07-13;**修回**:2013-08-31)
(编辑 龙 亮)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2014)02-0104-02

剪毛法标记实验大鼠

邓青松,熊 青,符纯川,马宽生 (400038 重庆,第三军医大学西南医院肝胆外科)

[**关键词**] 大鼠;标记;剪毛
[**中图法分类号**] R-332 [**文献标志码**] B

实验动物的标记方法多种多样,实验动物中又以大鼠最为常用。其中大鼠的标记方法有染料染色法、剪脚趾法、剪耳朵法、耳朵打孔法、烙印法、号牌法等[1],其中染料染色法在实验室最为方便、常用。上述方法具有刺激性、染料难购买、污染环境、残忍、易混淆等缺点,大多数不符合实验动物福利原则。本研究介绍一种新的大鼠标记方法,既解决了上述标记方法存在的不足,又符合动物福利原则。

1 材料与方法

1.1 传统实验大鼠标记方法

传统实验大鼠标记法以染色法最为常用,染色法标记时用毛笔或棉签蘸取染料,在动物体的不同部位涂上斑点,以示不同号码。编号的原则是:先左后右,从上到下。一般把涂在左前腿上的计为1号,左侧腹部计为2号,左后腿为3号[1],头顶部计为4号,腰背部为5号,尾基部为6号,右前腿为7号,右侧腰部为8号,右后腿计为9号。若动物编号超过10或更大数字时,可使用上述两种不同颜色的溶液,即把一种颜色作为个位数,另一种颜色作为十位数,这种交互使用可编到99号,假使把红的记为十位数,黄色记为个位数,那么右后腿黄斑,头顶红斑,则表示是49号鼠,其余类推。

1.2 新型实验大鼠标记方法

本方法是在现有的染色法之九分法的原理基础上通过改进而得来的。具体方法是:标记时用弯剪剪去大鼠不同部位适量的毛发(以可以区分为原则),以示不同编号。原则是:先左后右、从上到下。每个部位分为剪一处和剪两处,剪两处毛时每处之间留取毛发相隔开来,以便区分,但位于同一部位。左前肢剪毛表示1,腹部左侧示2 ,左后肢示3,头顶示4,腰背部示5,尾基部示6,右前肢示7,腹部右侧示8,右后肢示9[2]。剪一处示个位数,剪两处示十位数。那么左后腿剪一处表示是3号大鼠,右后腿剪一处表示是9号大鼠,右后腿剪两处,其余部位未剪毛表示是90号大鼠,右后腿剪两处、右前腿剪一处则表示是97号大鼠(图1、2)。其余类推。

(下转109页)

[**通信作者**] 马宽生,E-mail: makuansheng@vip.sina.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131127.1108.002.html(2013-11-27)

[10] Baum L G. Developing a taste for sweets[J]. Immunity, 2002, 16(1): 5-8.
[11] Kawakubo M, Ito Y, Okimura Y, *et al*. Natural antibiotic function of a human gastric mucin against Helicobacter pylori infection[J]. Science, 2004, 305(5686): 1003-1006.
[12] Lowe J B. Glycosylation, immunity, and autoimmunity[J]. Cell, 2001, 104(6): 809-812.
[13] Stanley P. Regulation of Notch signaling by glycosylation[J]. Curr Opin Struct Biol, 2007, 17(5): 530-535.
[14] Varki A. Nothing in glycobiology makes sense, except in the light of evolution[J]. Cell, 2006, 126(5): 841-845.
[15] Zachara N E, Hart G W. Cell signaling, the essential role of O-GlcNAc![J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1761(5/6): 599-617.
[16] Ismail M N, Stone E L, Panico M, *et al*. High-sensitivity O-glycomic analysis of mice deficient in core 2 {beta}1, 6-N-acetylglucosaminyltransferases[J]. Glycobiology, 2011, 21(1): 82-98.
[17] Fu J, Wei B, Wen T, *et al*. Loss of intestinal core 1-derived O-glycans causes spontaneous colitis in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(4): 1657-1666.
[18] Fu J, Gerhardt H, McDaniel J M, *et al*. Endothelial cell O-glycan deficiency causes blood/lymphatic misconnections and consequent fatty liver disease in mice[J]. J Clin Invest, 2008, 118(11): 3725-3737.
[19] Mankertz J, Schulzke J D. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications[J]. Curr Opin Gasteroenterol, 2007, 23(4): 379-383.
[20] Marth J D, Grewal P K. Mammalian glycosylation in immunity[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(11): 874-887.
[21] An G, Wei B, Xia B, *et al*. Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans[J]. J Exp Med, 2007, 204(6): 1417-1429.
[22] Hollingsworth M A, Swanson B J. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(1): 45-60.
[23] Lievin-Le Moal V, Servin A L. The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: mucins, antimicrobial peptides, and microbiota[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(2): 315-337.

(**收稿**:2013-08-01;**修回**:2013-09-09)
(编辑 王 红)

(上接 104 页)

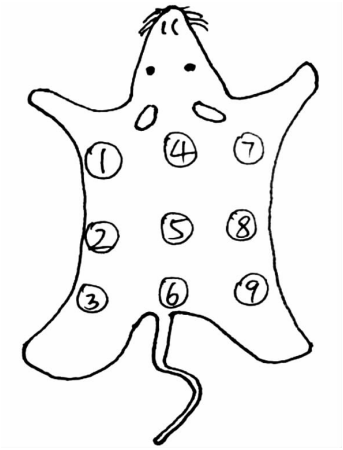


图 1 剪毛法标记实验大鼠分区示意图

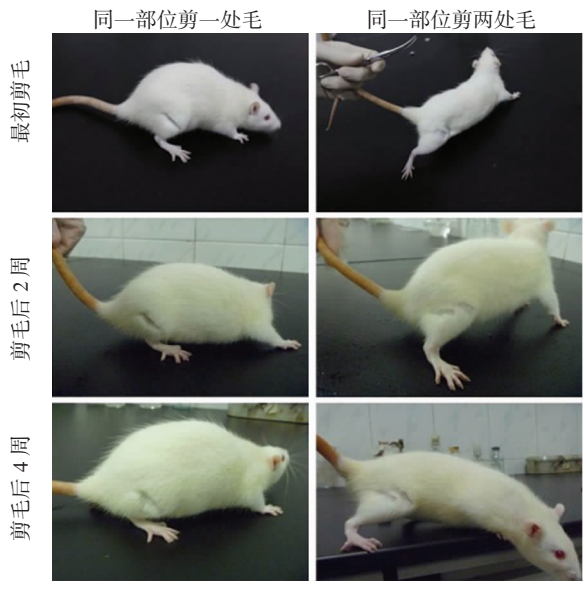


图 2 剪毛法标记实验大鼠不同时间标记效果

2 讨论

新型标记方法简单、方便、快捷。该方法在标记时所需材料仅为一把弯剪,无需其他耳标、金属编码打孔机等特殊器械、染色剂等。操作简便,大鼠依从性好,无需麻醉。在相应部位剪去适量的毛发就可以完成标记。且该方法特别适用于 10 只以下的大鼠的标记,值得应用。

新型标记方法易识别、持久。该方法标记的大鼠具有易识别的特点,且至少可以持续 4 周,仍然可以非常容易地识别大鼠的编号,减少了平时的工作量,且无需担心传统标记法如染色、标签等方法出现脱色、标签脱落而导致分组混淆等影响实验的情况。

新型标记方法标记量大。按照该标记方法的原则,可以标记 99 只大鼠。在此期间,我们还想到了采用每个部位只剪一处,通过剪的部位的不同和同时剪毛部位的数量来区分,这样可以达到 $C_9^0+C_9^1+C_9^2+C_9^3+C_9^4+C_9^5+C_9^6+C_9^7+C_9^8+C_9^9=(C_9^0+C_9^1+C_9^2+C_9^3+C_9^4)\times 2=512$ 只。但是,该方法复杂,实验大鼠数量越大,剪毛之处越多,最多时九处都剪毛。且动物编号复杂,需做好记录,大鼠编号难一眼识别,没有本文介绍的方法简便。

新型标记方法动物无痛苦。该方法对实验动物产生的影响非常小,不产生任何应激刺激和痛苦,符合实验动物伦理、福利原则,很好地保护了动物。

综上,剪毛法标记实验大鼠,符合动物福利的理念,简单、快速、易识别、经济、环保、持久、无痛苦、标记量大、对实验动物没有影响等优点,值得推广应用。本方法适用于体毛明显的大鼠,不适用于新生小鼠的标记。

参考文献:

[1] 赵寒昕,盛弘强. 实验小鼠标记识别系统的优化[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(12): 70-73.
[2] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001: 187-190.

(**收稿**:2013-07-26;**修回**:2013-10-30)
(编辑 邓强庭)