DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.05.012

DXB/c 近交系小鼠的建立及遗传学检测

魏 泓 周建华 牛 荣 陈丙波 陈书荣 (第三军医大学实验动物学教研室) 630038

提 要 将 DBA/2 雌鼠与 C_{57}BL/6 雄鼠杂交后,利用其 F_2 代连续进行兄妹交配,建立了 DXB/c 近交系小鼠。目前已近交 28 代,历时 13 年。经皮肤移植试验、下颌骨形态分析、混合淋巴细胞培养、毛色基因及生化标志基因检测,表明 DXB/c 系小鼠的基因已经纯合,符合一个近交系小鼠的标准。毛色基因及生化标志基因测试结果同时表明 DXB/c 系小鼠的遗传背景组合了两亲代品系的遗传基因。

关键词 小鼠,近交系;小鼠,近交 DBA;小鼠,近交 C_{57}BL;遗传学

在医学生物学研究中,应用近交系小鼠进行实验可减少和避免动物个体差异造成的影响,提高研究结果的准确性及重复性。国际小鼠标准命名委员会每隔 4 年均要公布数个新培育的小鼠近交系,并介绍世界各地饲养及新培育的近交系小鼠的有关资料,国内育成的 615、TA_1、TA_2 三个近交系小鼠已获国际承认[1]。但由于不同近交系小鼠各具特点,为了适应不同医学生物学研究的需要,人们仍在积极地培育新的近交系小鼠。作者从 1979 年 7 月开始,采用重组近交系小鼠[2~3]的建立方法,建立了一个称之为 DXB/c 的近交系小鼠。本文报告其建立经过及遗传学检测结果。

1 材料与方法

1.1 建立经过及方法

1979 年 7 月,将 DBA/2 雌鼠与 C_{57}BL/6 雄鼠交配,用其杂交子代建立繁殖线传代。从 F_2 代开始,每一代均严格按照同胞兄妹进行近亲交配。近交过程中按选优法进行繁殖生产,每一对种鼠均建立谱系档案。截止于 1992 年 12 月,已近交 28 代,达到建立一个近交系小鼠应近交 20 代以上的代数要求。

1.2 饲养条件

饲养于开放系统的单独饲养间,专人负责管理及记录,保持适宜的温、湿度及通风。饲喂的颗粒料中粗蛋白质、粗脂肪、赖氨酸、蛋氨酸、钙、磷的含量分别为22.7%、5.54%、1.25%、0.40%、1.24%、1.07%。每周喂2次葵花籽和麦芽,自由饮用清洁水。

1.3 遗传学检测

1.3.1 皮肤移植试验:随机抽取第 24 代的 10 只 DXB/c 3 月龄雌性小鼠,每 5 只为一组,采用尾部植皮法[4]进行 10 块自体皮片和 20 块异体皮片的移植,观察植皮 100 d 以上。

1.3.2 下颌骨形态分析:随机抽取第 26 代的 100 只 3 月龄雄性小鼠,分成 10 组,按 Festing 氏方法制备右侧下颌骨标本,测量下颌骨形态的 11 个点,并以其判别函数分析法公式计算出 4 组 DF 判别值和置信区域 $\pm 2s$,描出各组 DF 值在置信区域范围内的分布状态图[5]。

1.3.3 混合淋巴细胞培养:随机抽取第 24 代的 DXB/c 成年小鼠和本室饲养的 BALB/c 成年小鼠各 30 只,分别随机配对,采取胸腺,用 ^{3}H-TdR 同位素参入法[6]分别作两 品系小鼠的同系同体、同系异体及异系异体混合淋巴细胞培养,统计样品的每分钟脉冲数(cpm)值。

1.3.4 毛色基因测试:将 14 只 DXB/c 小鼠分成 2 组,分别与具有已知复隐性毛色基因的 DBA/2 及 615 两个品系小鼠杂交,根据 F_1 代小鼠的毛色确定 DXB/c 小鼠毛色基因的纯度及基因型[7]。

1.3.5 生化标志基因检测:随机抽取第 23 代的 DXB/c 成年小鼠 28 只,以醋酸纤维膜(板)电泳法[8~9]检测分布于 11 条染色体上的 25 个生化标志基因位点,每个基因位点检测的动物数不少于 6 只。

2 结果

2.1 皮肤移植试验

进行移植的 10 只 DXB/c 小鼠全部存活,移植的 10 块自体对照皮片和 20 块异体皮片在移植 100 d 后生长良好,毛向清楚,未出现排斥现象,存活率均为 100%。说明 DXB/c 系小鼠组织相容性基因位

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

点已达高度纯合，品系内个体间具有相同的组织相容性基因。

2.2 下颌骨形态分析

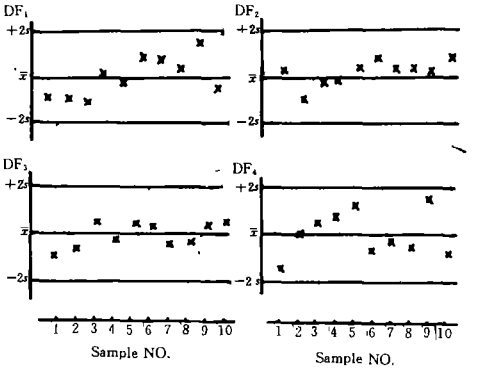
DXB/c 的所有 DF 值均在 $\pm 2s$ 控制界限内，见表 1 及附图，表明控制下颌骨形态的等位基因已达高度纯合。

表 1 样品 DF 值及其 $\pm 2s$ 的统计

Tab 1 DF and DF $\pm 2s$ of samples

Group No.	Mean DF			
	DF_1	DF_2	DF_3	DF_4
1	4.80	−2.77	0.00	−0.32
2	4.77	−3.52	0.17	0.61
3	4.63	−3.11	0.83	0.88
4	5.39	−2.86	0.36	1.04
5	5.23	−2.67	0.77	1.26
6	5.90	−2.43	0.62	0.15
7	5.90	−2.67	0.16	0.35
8	5.68	−2.67	0.30	0.21
9	6.29	−2.76	0.71	1.46
10	5.09	−2.38	0.87	0.04
$\bar{x}$	5.37	−2.82	0.50	0.61
$(\bar{x}+2s)$	6.59	−1.50	1.78	1.89
$(\bar{x}-2s)$	4.15	−4.14	−0.78	−0.67

Caculating method of DF and standard error s were derived from Festing[4]



附图 DF 值在置信区域中的分布

Fig Distribution of DF Values in Confidence interval

2.3 混合淋巴细胞培养

DXB/c 同系异体与 DXB/c 同系同体混合淋巴细胞培养的每分钟脉冲数(cpm)值差异不显著，但其 cpm 值均极显著低于 BALB/c 同系异体和 DXB/c 与 BALB/c 异系异体混合淋巴细胞培养的 cpm 值，见表2。前者表明 DXB/c 小鼠品系内个体间组织相容性程度高，后者进一步说明 DXB/c 系小鼠个体间组织相容性程度符合近交系小鼠的标准，也说明与 BALB/c 小鼠相比，DXB/c 小鼠呈低度混合淋巴细胞反应。

表2 不同混合淋巴细胞培养(MLC)cpm 值比较

Tab 2 Comparison of cpm values in different groups of Mixed lymphocyte cultivation (MLC)

No. of MLC group	Different individuals of DXB/c	Same individual of DXB/c	Different individuals of BALB/c	Same individual of BALB/c	Different individuals of DXB/c and BALB/c
Animal NO.	30	30	30	30	30
cpm $\pm s$	353±81	333±53	665±101	398±118	3035±463
Comparison with cpm of different individuals of DXB/c		$P>0.05$	$P<0.01$	$P>0.05$	$P<0.01$

2.4 毛色基因测试

DXB/c 系小鼠与 DBA/2系小鼠交配后，生产的7窝共计41只 F_1 代仔鼠的毛色均为淡黑色，与615系小鼠交配后，生产的7窝共计44只 F_1 代仔鼠的毛色均为黑色。其杂交仔代毛色的一致性表明 DXB/c 小鼠的毛色基因为纯合型。毛色基因的判定结果见表3。表明其毛色基因型为 aa BB CC dd。而亲代品系 DBA/2的毛色基因型为 aa bb CC dd，C_5,BL/6的基因型为 aa BB CC DD，显示 DXB/c 小鼠的毛色基因型在 D 位点上表现为 DAB/2的 d，而在 B 位点上表现为 C_5,BL/6的 B，组合了两亲代品系的毛色基因。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表3 毛色基因测试结果

Tab 3 Detection in coat colour genes

Strains with known double recessive genes	Strain tested	Mice of First generation			Genotype of DXB/c
		No. total	Coat colour	Genotype	
DAB/2 aa bb CC dd (Light brown)	DXB/c	41	light black	aa Bb CC dd	aa BB CC dd
615 aa bb CC DD (Brown)	DXB/c	44	Black	aa Bb CC Dd	aa BB CC dd

2.5 生化标志基因检测

进行检测的25个生化标志基因位点分布在11条染色体，结果未发现杂合，均为纯合型。在25个生化标志基因位点中，DBA/2与 $C_{57}BL/6$ 两亲代品系有13个位点基因型不同，其余12个位点基因型相同。DXB/c 系小鼠在前13个位点中有9个位点与 DBA/2 基因型相同，4个位点与 $C_{57}BL/6$ 基因型相同，故在检测的25个生化标志基因位点中，DXB/c 系小鼠共分别有 21 个基因位点与 DBA/2 的基因型相同，16个基因位点与 $C_{57}BL/6$ 基因型相同，见表4。

表4 DXB/c 与 DBA/2、$C_{57}BL/6$ 小鼠生化标志基因比较

Tab 4 Comparison of biochemical marker genes in DXB/c with DBA/2 and $C_{57}BL/6$

Locus	Enzyme or Protein	Chromosome No.	Genotype of DXB/c	Genotype of DBA/2	Genotype of $C_{57}BL/6$
Car-2	Carbonic anhydrase-2	3	b	b	a
Gpd-1	Glucose-6-phosphate dehydrogenase-1	4	b	b	a
Mup-1	Major urinary protein	4	a	a	b
Pgm-1	Phosphoglucomutase-1	5	b	b	a
Tam-1	Tamase-1	7	b	b	c
Es-1	Esterase-1	8	b	b	a
Mod-1	Malic enzyme-1	9	a	a	b
Sep-1	Serum protein-1	9	b	b	a
Es-10	Esterase-10	14	b	b	a
Idh-1	Isocitrate dehydroenase-1	1	a	b	a
Gpi-1	Glucosephosphate isomerase-1	7	b	a	b
Hbb	Hemoglobin β-chain	7	s	d	s
Es-3	Esterase-3	11	a	c	a
Amy-1	Amylase-1	3	a	a	a
Amy-2	Amylase-2	3	a	a	a
Pgm-2	Phosphoglucomutase-2	4	a	a	a
Mod-2	Malic enzyme-2	7	b	b	b
Got-2	Glutamic-oxalacetic transaminase-2	8	b	b	b
Es-2	Esterase-2	8	b	b	b
Es-11	Esterase-11	8	a	a	a
Trf	Transferrin	9	b	b	b
Mpi-1	Mannosephosphate isomerase-1	9	b	b	b
Glo-1	Glyoxalase-1	17	a	a	a
Ce-2	Kidney catelase-2	17	a	a	a
Got-1	Glutamic-oxalacetic transaminase-1	19	a	a	a

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

3.1 DXB/c 系小鼠已近交28代，经皮肤移植试验和混合淋巴细胞培养检测，证明品系内个体间组织相容性基因相同，下颌骨形态分析证明控制 DXB/c 小鼠下颌骨形态遗传的等位基因呈纯合状态，毛色基因及生化标志基因的测试证明其相应基因位点也呈纯合状态。因此，DXB/c 系小鼠的近交代数及遗传学检测结果均符合一个近交系小鼠的标准。

3.2 DXB/c 系小鼠的毛色基因及生化标志基因测试结果表明其遗传背景组合了 DBA/2与 C_{57}BL/6两亲代品系小鼠的遗传基因，且其生化标志基因位点与国内外已经公布的近交系小鼠对照，未发现相同的小鼠近交系。因此，DXB/c 系小鼠在遗传学上是一个独立的近交系。但 DXB/c 系小鼠与两亲代品系 DBA/2及 C_{57}BL/6各种生物学特性的异同尚待深入研究，它在医学生物学研究中的特殊用途也尚待揭示。

参考文献

1. Joan Staats. Standardized nomenclature for inbred strains of mice: Eighth Listing. Cancer Research, 1985; 45: 945～977
2. Bailey DW. Recombinant inbred strains and bilineal congenic strains. The Mouse in Biomedical Research Vol I. Academic Press, 1981: 223～239
3. Nesbitt MN, Skamene E. Recombinant inbred mouse strains derived from A/J and C_{57}BL/6: A Tool for the study of genetic mechanisms in host resistance to infection and malignancy. Journal of Leukocyte Biology, 1984; 36: 357～364
4. 史顺娣 王 丹。小鼠遗传纯度的快速鉴定一尾部植皮法。上海实验动物科学，1987; 7(4): 226～227
5. 孙 靖。小鼠下颌骨形态分析法。上海实验动物科学，1983; 3(4): 215～222
6. 郑泽铣 曹锡坤 周来娣。应用微量混合淋巴细胞培养(MLC)方法检测近交系小鼠组织相容性程度初探。上海实验动物科学，1984; 4(1): 8～12
7. 朱福令。近交系和远交系白化小鼠毛色基因的测试。上海实验动物科学，1984; 4(1): 8～12
8. 邢瑞昌。用蛋白质及同功酶醋酸纤维素膜电泳法对近交系小鼠进行遗传鉴定。遗传学报，1983; 10(1): 63～72
9. 邢瑞昌。三个中国近交系小鼠的生化遗传标准。遗传学报，1986; 13(5): 383～390

(收稿：1992-12-29；修回：1993-08-24)

Establishment and genetic checkup of an inbred strain of DXB/c mouse

Wei Hong, Zhou Jianhua, Niu Rong, Chen Bingbo, Chen Shurong (Department of Laboratory Animals, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract An inbred strain of DXB/c mouse has been established by hybridization between DBA/2 female mice and C_{57}BL/6 male ones and subsequently by sibmating their offsprings beginning from the F_2 generation. Now DXB/c mouse has been passed for 28 generations of full sibmating since 1979. Genetic checkup by means of skin grafting, mandibular morphology analysis, mixed lymphocyte cultivation, coat colour gene testing, and biochemical marker gene examination confirmed that the full homozygosity of alleles has been achieved in DXB/c mouse and DXB/c mouse comforms to the criteria of an inbred strain of mouse. In addition, the genetic background of DXB/c mouse is composed of the genes of its progenitors DBA/2 and C_{57}BL/6 as shown by coat colour gene testing and biochemical marker gene examination.

Key words mice, inbred strains; mice, inbred DBA; mice, inbred C_{57}BL; genetics

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net