



疾病小鼠模型的引进及其繁育保种实践

田 枫, 康爱君, 郑振辉, 周淑佩

(北京大学医学部实验动物科学部, 北京 100191)

【摘要】 引进疾病小鼠模型是解决国内迅速增长的科研需求的有效途径之一。本文结合工作实际, 介绍寻求目标疾病小鼠模型的途径、引进疾病小鼠模型的程序及注意事项、小鼠模型繁育保种的一些体会。

【关键词】 疾病小鼠模型; 引进; 繁育

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)09-0084-03

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.009.019

Introduction of Disease Mouse Models and its Breeding Technology

TIAN Feng, KANG Ai-jun, ZHENG Zhen-hui, ZHOU Shu-pei

(Department of Laboratory Animal Science, Health Science Center, Peking University, Beijing, 100191, China)

【Abstract】 As an efficient way, introduction of disease mouse models could provide support for scientific research in China. The practices about conservation and breeding of disease mouse models were reviewed in the article. It will be useful to guarantee the quality of imported disease mouse models.

【Key words】 Disease mouse model; Import introduction; Breeding

国际上已有几千种疾病小鼠模型, 特别是大量的基因修饰小鼠模型可供科研工作者使用。由于技术等方面的原因, 中国现有的动物模型远远不能满足迅速增长的科研需求, 从国外引进动物模型是解决科研需求的有效途径之一。

北京大学医学部实验动物科学部自1997年先后从美国、日本、瑞士、加拿大、韩国等国家引进载脂蛋白E基因敲除动脉粥样硬化小鼠、金属硫蛋白基因敲除小鼠、乙型肝炎转基因小鼠等疾病小鼠模型80余个品系, 很大程度上满足了校内外的科研工作需求, 同时积累了较为丰富的疾病小鼠模型引进及繁育保种经验。本文从如何寻求目标疾病小鼠模型、引进小鼠模型的程序及关键问题和小鼠模型的繁育保种技术3个方面进行了探讨, 以期为国内

其他单位的工作提供参考。

1 寻求目标疾病小鼠模型的途径

研究者寻求小鼠模型的最主要的途径是通过实验动物相关网站, 如美国杰克逊实验室(The Jackson Laboratory)网站 <http://www.jax.org>; 美国查理士利华实验室(Charles River Laboratory)网站 <http://www.criver.com> 等。

The Jackson Laboratory 建立于1929年, 是一个非赢利性的独立研究机构。作为全球小鼠模型资源中心, 3,000多个品系由The Jackson Laboratory 保种并向全世界科研机构提供。通过 <http://www.jax.org> 寻找所需要的模型小鼠, 可通过以下步骤完成。

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31000609)。

【作者简介】 田枫(1973-)女, 副主任技师, 博士, 主要从事实验动物研究。

【通讯作者】 周淑佩(1963-)女, 副研究员, 学士, 主要从事实验动物管理及研究。

1) Use the JAX[®] Mice Database: <http://jaxmice.jax.org/query/>

2) Model Lists by Research Area: <http://jaxmice.jax.org/models/index.html>

3) Model Lists by Category of Strains: http://jaxmice.jax.org/info/strain_categories.html

Charles River Laboratory 是世界上最大的实验大、小鼠商品化生产、销售公司。总部设在美国,欧洲、日本等地都有其子公司。1999 年在北京设立代理公司,北京维通利华实验动物技术有限公司生产、代理该公司产品。有些 The Jackson Laboratory 没有的品系在该公司网站的 Research Models and Services Mice (研究模型及小鼠服务) 栏目可以查到。

其它实验动物模型相关网站也可供参考,如 <http://www.muridae.com/wmc/> <http://www.mattek.com/> 等。

除此之外,通过与国外研究机构合作的方式亦可作为疾病小鼠模型引进的途径。

2 我国引进疾病小鼠模型的程序及关键问题

进口实验动物,进境检疫要求包括检疫审批、境外检疫、进口报检、口岸查验、隔离检疫、实验室检测、日常监管、风险预警、应急处理等主要环节^[1]。以从美国引进小鼠到北京为例,说明引进的一般程序。

2.1 引进程序和周期

2.1.1 隔离场检查:引进小鼠需要在有隔离环境设施的隔离场地进行检疫。填写隔离场申请表和引进实验动物用途说明(包括来源、用途、防疫措施等),预约北京市出入境检验检疫局(简称北京局)的检疫员检查隔离场地,场地合格后上交表格。

2.1.2 检疫审批:用电子钥匙在网上向北京局提交申请,该局受理后将材料转给国家出入境检验检疫局(简称国家局),国家局审批需 20 个工作日。如通过审批,将《进境动植物检疫许可证》寄回。(有进出口经营权的单位可申请电子钥匙,如果没有进出口经营权的单位一般没必要申请电子钥匙,可以委托代理公司完成引进工作。)

2.1.3 出口国家需提供的文件:提供给中方合同、形式发票等必要的报关文件,关键文件是美国农业部的动物卫生证书(animal health certificate),而且应与我国《进境动植物检疫许可证》上规定的检疫

条件相符合。在运输前需提供运单。

2.1.4 进口报检:动物到达北京前 1 周至北京局办理报检手续。

2.1.5 口岸查验:动物到达当日与检疫员共同去机场进行现场检疫。经检疫合格,完成通关手续,可将引进的小鼠运抵隔离场。

2.1.6 隔离检疫:动物于隔离场隔离 30 d。

2.1.7 放行:隔离检疫 30 d 后到北京局办理放行手续,动物方可进行科研应用。

2.2 需要注意的关键问题

2.2.1 通常科研单位不具备进出口权,所以委托代理公司完成引进工作是较为理想的选择。如北京维通利华实验动物技术公司开展代理引进动物的业务,该公司已帮助多家科研单位完成基因修饰小鼠的引进。

2.2.2 引进小鼠不建议在夏季或冬季进行,由于高温或低温对动物的健康极其不利,也不符合行业倡导的动物福利原则^[2]。

2.2.3 从国外引种的小鼠较为珍贵,数量较少,引种数量至少应在 2 对以上,小鼠引进到隔离场所时的周龄最好在 6~20 周龄,因为此阶段小鼠健康状况相对较好,由于在隔离检疫期内的小鼠是不允许进行繁殖的,当一个月隔离检疫期满后,小鼠正处于繁殖旺盛期。如果引进的小鼠超过 8 月龄,且从未进行过繁殖,雄性尚有繁殖能力,但 9 月龄的雌性小鼠的繁殖能力很差,即使妊娠产子,也无能力哺乳,可能产生断种的后果^[3]。

2.2.4 小鼠到达隔离场的验收环节要特别注意。小鼠到达检疫隔离场后,首先检查包装是否破损,如果有破损说明可能存在野蛮装卸,动物可能受到过惊吓;在超净工作台内打开包装后,如果看到垫料、饲料都集中到一侧,说明动物在运输过程中肯定受到过惊吓,可能会对该批动物的保种造成不利影响。其次,验收时还要记录引进日期,引种来源、微生物控制等级、品种品系的名称、出生日期、性别、数量、是否有耳号及健康状况等。

3 疾病小鼠模型的饲养及繁育

3.1 疾病小鼠模型的饲养条件

疾病小鼠模型可能抗病能力相对较低、体质较差,应在屏障环境中饲养,而保种群要通过剖宫产取得,确保保种用动物达到 SPF (specific pathogen free, 无特定病原体) 级标准。

饲料需供给全价营养饲料。对于某些特殊动物模型,应使用特殊饲料。如 BALB/c 遗传背景的模式小鼠喜食高蛋白饲料,可加喂高压灭菌鸡蛋,但量要适中。如饲育载脂蛋白 E 基因敲除动脉粥样硬化小鼠时,常给予高脂饲料,但饲料较酥,小鼠可能会得不到及时磨牙,牙会长长,可在鼠盒中加入一消毒木块,防止小鼠因牙齿过长吃不到食物的现象。苯丙酮尿症小鼠喜含脂类饲料,在饲喂过程中每周加 5 粒灭菌瓜子,对动物生长有帮助^[4]。

3.2 疾病小鼠模型的繁育保种

疾病小鼠模型在繁育保种过程中,可能会出现癫痫、毛发脱落、皮肤松弛、反应迟钝、早衰、白内障、视网膜变性、溃疡、皮疹、脱肛等众多症状。而这些症状往往都是品系本身的固有特征。饲养管理人员要注意观察不应把具有品系特征的早发症状视为异常而淘汰。

疾病小鼠模型在选种、育种时要特别注意不能一味地选择繁殖能力强、体格健壮的个体,这种个体往往丢掉了原来特定的基因,或者可能是转进的基因丢失,或是敲除的基因复位,或是突变基因发生回复突变。因此在繁殖过程中,常选择 2~4 胎作为选种、育种的对象,同时要考虑在对其繁殖力无影响或影响较小的情况下,尽可能选择胎次多的仔鼠育种。

对于 6~8 月龄年龄较大的模型鼠若要进行繁殖,应抓紧在繁殖末期的繁殖机遇,寻找同期提前 1~2 d 产仔且母性强的品系作为代乳母,最好代乳

母的颜色与模型鼠的颜色不一致,并需在代乳母预产期前 1 周转运到与该模型鼠生长环境一致的饲养室,一旦错过繁殖末期则无补救措施。

疾病小鼠模型的母性较弱,易惊吓,常会吃掉几乎所有头胎仔鼠。另外,因哺乳能力较差,出生后 1 周内的仔鼠的死亡率较高。因此应将妊娠后期的孕鼠换窝后,加足水,添足料,1 周内不再惊动它,则能有效提高哺乳仔鼠的成活率^[5]。

综上所述,从国外引进疾病小鼠模型对拓宽国内科研工作思路很有必要,同时在饲育模型小鼠的过程中注意观察各品种品系特征,应尽可能确保维持疾病小鼠模型遗传稳定,保证种群稳定繁殖,为科学研究奠定良好基础。

参考文献:

- [1] 林祥梅,李志辉. 实验动物与出入境检验检疫[J]. 中国比较医学杂志,2011,21(10,11):34-38.
- [2] 孙德明,李根平,陈振文,等. 实验动物从业人员上岗培训教材[M]. 北京:中国农业大学出版社,2011. 76-80.
- [3] 郑振辉,周淑佩,彭双清. 实用医学实验动物学[M]. 北京:北京大学医学出版社,2008. 370.
- [4] 周淑佩,郑振辉,贾光. 人类疾病动物模型管理要点[J]. 中华医学科研管理杂志,2012,25(2):129-130,封四.
- [5] 郑振辉,周淑佩,彭双清. 实用医学实验动物学[M]. 北京:北京大学医学出版社,2008. 371.

[修回日期]2012-08-25

(上接第 71 页)

- fibrosis intestinal disease in mice[J]. Mol Genet Metab, 2011, 103(1):38-43.
- [17] Zeng L, Carter AD, Childs SJ. miR-145 directs intestinal maturation in zebrafish[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(42):17793-17798.
 - [18] Tang Y, Banan A, Forsyth CB, et al. Effect of alcohol on miR-212 expression in intestinal epithelial cells and its potential role in alcoholic liver disease[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2008, 32(2):355-364.
 - [19] Garson R, Marcucci G, Croce CM. Targeting microRNAs in cancer: rationale, strategies and challenges[J]. Nat Rev Drug Discov, 2010, 9(10):775-789.
 - [20] Aagaard L, Rossi JJ. RNAi therapeutics: principles, prospects and challenges[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59(2-3):75-86.
 - [21] Naliboff BD, Chang L, Munakata J, et al. Towards an integrative model of irritable bowel syndrome[J]. ProgBrainRes, 2000, 122:413-423.

[修回日期]2012-08-18