



# APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup>转基因小鼠的剖腹产净化技术研究

张辰子<sup>1,2</sup> 杨林<sup>2</sup> 夏冠玲<sup>2</sup> 郑佳琳<sup>2</sup> 刘科<sup>2</sup> 刘盛来<sup>2</sup> 林忠宁<sup>1</sup> 唐小江<sup>2</sup>

(1. 中山大学公共卫生学院, 广东 广州 510000; 2. 广东省医学实验动物中心, 广东 佛山 528248)

**【摘要】** 目的 研究感染肠道鞭毛虫转基因小鼠的生物净化技术。剖腹产方法对感染的小鼠进行净化,使其达到 SPF 级标准,为建立基因工程小鼠肠道鞭毛虫净化技术提供依据。方法 取感染肠道鞭毛虫的 APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)转基因小鼠(APP 小鼠),在超净工作台内行剖腹产取胎手术,用 SPF 级帕金森病转基因鼠代乳,术后 1、4、7、10 月进行微生物和寄生虫检测;PCR 技术鉴定剖腹所得 APP 仔鼠及其繁殖群(F1 代) APP<sup>swe</sup> 基因型,计算 F1 代每窝仔鼠 APP<sup>swe</sup> 基因阳性率及平均阳性率,用单样本 *t* 检验分析 APP<sup>swe</sup> 基因阳性率是否符合孟德尔遗传规律。结果 实施剖腹产手术 10 例,获仔鼠 75 只,7 日龄仔鼠存活率及离乳存活率分别为 90.67% (68/75) 和 73.33% (55/75);净化前 APP 小鼠肠道鞭毛虫感染率均为 100% (5/5),净化后的 4 次检测,APP 小鼠 SPF 级所要求的病原菌及寄生虫结果均为阴性。净化后的 APP 仔鼠共繁殖 42 窝 F1 代,平均每窝 APP<sup>swe</sup> 基因阳性率为 48.3%,与孟德尔遗传规律 50% 的理论阳性值相比无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。结论 剖腹产净化技术可成功去除该 APP 小鼠的肠道鞭毛虫,且对 APP<sup>swe</sup> 基因遗传性状未产生明显影响。

**【关键词】** 转基因小鼠; 鞭毛虫; 剖腹产; 净化

**【中图分类号】** R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2013)07-0050-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2013.007.012

## Study of Decontamination Technique among APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> Transgenic Mice using Caesarian Section

ZHANG Chen-zi<sup>1,2</sup>, YANG Lin<sup>2</sup>, XIA Guan-ling<sup>2</sup>, ZHENG Jia-lin, LIU Ke<sup>2</sup>, LIU Sheng-lai, LIN Zhong-ning<sup>1</sup>, TANG Xiao-jiang<sup>2</sup>

(1. School of Public Health, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510000, China;

2. Guangdong Medical Laboratory Animal Center, Foshan 528248, China)

**【Abstract】 Objective** To study decontamination technique of caesarean section among flagellates infected transgenic mice, and to establish specific pathogen-free (SPF) mice strain in order to provide technical support for establishment of flagellates-eradication methods of genetically engineered mice. **Methods** APP<sup>swe</sup>/PS1<sup>dE9</sup> transgenic mice (APP mice) were used to conduct this research. Caesarean section was taken on pregnant APP mice to get pups under a SPF barrier environment, and the pups were transferred to female SPF Parkinson's Disease transgenic mice which served as a foster mother. Survival rates of pups were calculated in 7 days of age and after weaning. Pathogens were tested in the first month, and later, every 3 months since Caesarean sections. APP<sup>swe</sup> gene of APP mice was amplified by polymerase chain reaction (PCR) for genotyping. Average gene positive rate was calculated among the pups and their offspring (F1), and one sample *t* test was conducted to compare the average gene positive rate with the theoretical Mendelian segregation

[基金项目] 广东省科技计划项目(项目编号: 2011B010500013), 佛山市院市合作项目(项目编号: 2011BY100102)。

[作者简介] 张辰子(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 分子毒理与模式动物学。

[通讯作者] 唐小江(1967-), 男, 主任医师, 博士, 研究方向: 模式动物学, Email: river-t@126.com; 林忠宁(1969-), 男, 教授, 博士, 研究方向: 分子毒理学, E-mail: linzhn@mail.sysu.edu.cn.

ratio (50%) . **Results** We performed 11 Caesarean sections on APP pregnant mice , and a total of 75 pups were collected and transferred to a foster mother. Survival rate of the pups after 7 days and weaning was 90.67% (68/75) and 73.33% (55/75) , respectively. Pathogens tested before decontamination showed flagellates infection among APP mice was 100% (5/5) , but after decontamination , all the pathogens required for SPF all show negative results. The average *APP<sup>swe</sup>* gene positive rate of the dams in APP mice after decontamination was 48.3% , which was in accordance with the Mendelian segregation ratio ( $P > 0.05$ ) . **Conclusion** We had successfully eradicated flagellates from the APP mice by caesarean section and a foster mother technique with stable hereditary feature of *APP<sup>swe</sup>* gene.

**【Key words】** Transgenic mice; Flagellates; Caesarean section; Decontamination

基因工程小鼠是生物医学研究领域常用工具, 但是其制作过程复杂, 容易受到病原体污染<sup>[1]</sup>, 为此我们以感染肠道鞭毛虫的 APP<sup>swe</sup>/PS1dE9 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 转基因小鼠 (APP 小鼠) 为对象, 建立了安全可靠的剖腹产生物净化技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

超净工作台 (苏州安泰净化) , 恒温加热板 (海门其林贝尔) , 玻璃皿, 烧杯, 滤纸, 手术剪、止血钳等常规手术器械 (分为 3 套, 分别用于剪皮肤, 分离子宫和剖离小鼠) , 生理盐水 2% 过氧乙酸消毒液。所有玻璃器皿和手术器械均经 121℃, 30 min 高温灭菌。

### 1.2 试剂

血琼脂、胆硫乳 (DHL) 琼脂等主要培养基 (广州环凯微生物科技有限公司) , 糖发酵、尿素等细菌鉴定生化反应管 (杭州天和微生物试剂有限公司) , 沙门菌属诊断血清 (宁波天润药业有限公司) , 弓形虫 IHA 检测试剂盒 (中国农业科学院兰州兽医研究所) , 泰泽病原体、支原体及小鼠病毒检测试剂盒 (深圳青珊瑚科技有限公司) , DNA Taq 酶、dNTP 等 PCR 相关试剂 (天根生化科技有限公司) , 琼脂糖粉 (Invitrogen 公司, 美国) , 蛋白酶 K (Sigma 公司, 美国) , 其他试剂均购自广州中南化工试剂厂。

### 1.3 实验动物与实验设施

待净化鼠为 APP<sup>swe</sup>/PS1dE9 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 转基因小鼠, 采用杂合子保种繁育方式, 即雄性杂合子 × 雌性野生型 (*APP<sup>swe</sup> + / - ♂ × APP<sup>swe</sup> - / - ♀*) , 选取 3~6 月龄野生型雌鼠, 体重 25~30g, 3~6 月龄杂合子雄鼠, 体重 25~30g; 代乳鼠为 SPF 级 Prnp-SNCA \* A53T 帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 转基因小鼠 (PD 小鼠) , 选择母性较好的经产雌鼠, 3~6 月龄。

以上两种小鼠均购自南京模式动物研究所

【SCXK(苏) 2010-0001】种源均为美国 Jackson 实验动物中心。动物实验操作在广东省医学实验动物中心 SPF 级屏障设施动物房【SYXK(粤) 2008-0002】APP 小鼠与 PD 小鼠饲养在不同的独立通风笼具系统 (IVC) 内。本实验所有实验操作程序均经过广东省医学实验动物中心实验动物伦理委员会批准。

### 1.4 APP 小鼠的剖腹产生物净化

#### 1.4.1 生物净化前微生物及寄生虫检测

对感染肠道鞭毛虫的 APP 小鼠随机抽样 5 只, 按照 GB 14922.2-2011《实验动物微生物学等级及监测》<sup>[2]</sup>和 GB 14922.1-2001《实验动物寄生虫学等级及监测》<sup>[3]</sup>中 SPF 级标准进行微生物和寄生虫检测, 明确 APP 小鼠病原体感染情况。

#### 1.4.2 APP 小鼠配种及 PD 代乳鼠的准备

将 3~6 月龄野生型雌性与杂合子雄性 APP 小鼠以 1:1 比例交配, 共配种 20 对。下午 5 时将待交配小鼠合笼, 第二天早上 8 时观察雌鼠, 若有阴道栓则记为受孕 0.5 d, 将受孕母鼠分笼单独饲养, 在受孕第 18.5 天进行剖腹手术。SPF 级 PD 代乳鼠待剖腹 APP 小鼠提前 1~3d 进行交配。受孕 APP 小鼠及代乳 PD 小鼠在怀孕及代乳期间均加强营养。

#### 1.4.3 剖腹手术

所有手术操作均在超净工作台内进行。将孕鼠脱颈椎处死, 浸没于 2% 过氧乙酸中 2~3 s, 置于灭菌滤纸上, 75% 酒精消毒腹部皮肤, 用手术剪剪开腹部皮肤和肌肉, 充分暴露子宫。换一套洁净手术器械, 用止血钳夹住子宫颈, 在近肛门处剪断子宫颈, 分离整个子宫, 注意分离过程中不要剪破小鼠肠道, 将子宫浸没于 2% 过氧乙酸 2~3 s, 再浸没于生理盐水中迅速涮洗一遍, 放入玻璃皿内, 在玻璃皿外侧喷洒 75% 酒精消毒。将玻璃皿移至另一超净工作台, 打开皿盖, 该超净台内第二术者取出平皿内子宫, 于灭菌滤纸上剖出仔鼠, 迅速擦净仔鼠口鼻及身上的粘液, 将仔鼠置于 37℃ 的恒温板上, 用干净的镊子轻夹仔鼠尾部给予刺激, 使仔鼠发声。

#### 1.4.4 代乳

PD 代乳鼠在 APP 小鼠剖腹手术前 1~3 d 生产,将代乳鼠的幼崽弃去,轻抚代乳鼠腹部使其排尿至剖得的 APP 仔鼠身上,让仔鼠染上代乳鼠气味后,将仔鼠放入代乳鼠笼内,用笼内垫料盖于仔鼠身上,约隔半小时后再观察代乳鼠是否代乳。每只代乳鼠哺乳不超过 10 只净化后仔鼠。记录 APP 仔鼠存活情况,计算仔鼠存活率,7 日龄存活率 = 7 日龄存活仔鼠数 / 予代乳仔鼠数 × 100%,离乳存活率 = 21 日龄存活仔鼠数 / 予代乳仔鼠数 × 100%。

#### 1.4.5 生物净化术后微生物和寄生虫检测

剖腹产手术剖得的 APP 仔鼠及其扩大繁殖群 F1 代,在净化后第 1、4、7、10 月按照种群数量分别抽样 5~10 只小鼠,抽样与检测方法同 1.4.1。

#### 1.5 APP 小鼠基因型鉴定

APP 小鼠在 7~10 日龄内,剪鼠尾(约 0.5 cm)用鼠尾裂解液(20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 400 mM NaCl, 1% SDS, 含蛋白酶 K 0.5 mg/mL)消化,水浴 55℃ 过夜,酚氯仿法抽提基因组 DNA。PCR 法检测 *APP<sup>swe</sup>* 基因(上游引物 5'-GACTGACCAC TCGACCAGTTCTG-3',下游引物 5'-CTTGTAAGTT GGATTCTCATATCCG-3',由上海生工生物工程公司合成,PCR 产物为 350 bp)。PCR 反应条件为 94℃ 3 min, 35 个循环(94℃ 30 s, 58℃ 1 min, 72℃ 1 min), 72℃ 10 min。取 PCR 产物 5 μL 于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像设备观察结果,计算净化后剖腹所得 APP 小鼠扩大繁殖群 F1 代中 *APP<sup>swe</sup>* 基因的平均阳性率(平均阳性率 = APP 小鼠繁殖群每窝仔鼠阳性率之和 / 总窝数 × 100%)。

#### 1.6 统计方法

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,对变量资料采用算术均数进行统计描述,用单样本 *t* 检验比较净化后小鼠 *APP<sup>swe</sup>* 基因平均阳性率是否符合孟

德尔遗传规律 50% 阳性率理论值,取  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 APP 小鼠剖腹产手术及代乳情况

配种的 APP 母鼠中,共检测到 11 只母鼠有阴道栓,除一例母鼠自然分娩,共实施剖腹产手术 10 例,剖得仔鼠 80 只,其中有 5 只为畸胎或死胎不予代乳,余 75 只用 PD 小鼠进行代乳(表 1)。

### 2.2 APP 小鼠生物净化效果

APP 小鼠在净化前 3 个月,每月检测一次微生物和寄生虫感染情况,均检出肠道鞭毛虫,感染率均为 100% (5/5),其余检测项目为阴性;生物净化后第 1、4、7、10 个月,所有 SPF 级必检项目均为阴性(表 2)。

### 2.3 APP 转基因小鼠净化后基因鉴定结果

对本次剖腹产净化后最终存活的 55 只仔鼠进行 *APP<sup>swe</sup>* 基因鉴定,可用于繁殖后代的有 7 只雄性 (*APP<sup>swe</sup> + / -*) 21 只雌性 (*APP<sup>swe</sup> - / -*)。净化后 10 个月,剖腹所得 APP 仔鼠共繁殖了 42 窝 F1 代,种群总数达到 355 只, F1 代每窝仔鼠 *APP<sup>swe</sup>* 基因平均阳性率为 48.65%,与孟德尔遗传规律 50% 的理论值相比无统计学差异 ( $t = -0.447, P > 0.05$ )。部分 APP 小鼠基因鉴定结果见图 1,携带 *APP<sup>swe</sup>* 基因的阳性鼠可见清晰 PCR 扩增条带,与目的片段(350bp)大小相符,阴性鼠无条带。

## 3 讨论

肠道鞭毛虫是影响 SPF 级实验动物达标的主要寄生虫之一<sup>[4,5]</sup>,其包囊会附着在垫料、饲料及动物排泄物中,实验动物一旦感染上则难以清除。目前,国内外已有利用剖腹产技术来去除某些病原体(如金黄色葡萄球菌<sup>[6]</sup>、小鼠肝炎病毒<sup>[7]</sup>、肺卡氏囊虫<sup>[8]</sup>等)从而成功净化大小鼠种群的案例,但是用该技术对基因工程小鼠肠道鞭毛虫的清除未见报道。

表 1 APP 小鼠剖腹产手术及代乳情况

Tab. 1 Caesarean section and fostering results of APP mice

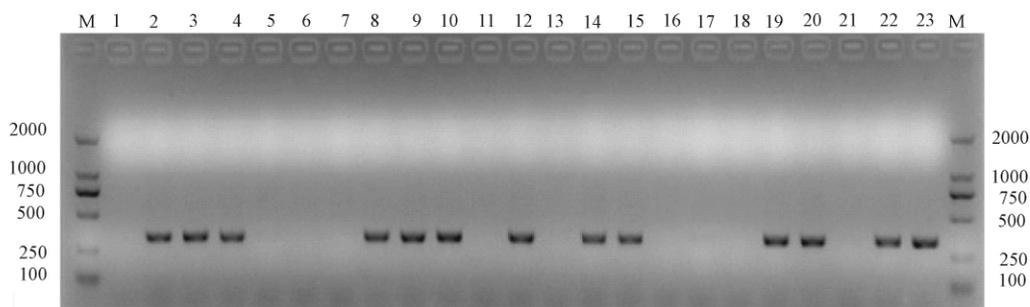
剖腹鼠 编号 ID	剖得仔鼠数(只) Number of pups been collected	予代乳仔鼠数(只) Number of pups been fostered	7 日龄存活数(只) Survival number of 7 days'age	7 日龄存活率(%) Survival rate of 7 days'age(%)	21 日龄存活数(只) Survival number of weaning	离乳存活率(%) Survival rate of weaning(%)
APP521	10	10	10	100.00	9	90.00
APP417	11	11	9	81.82	4	36.36
APP401	9	9	7	77.78	2	22.22
APP367	9	9	8	88.89	8	88.89
APP523	10	10	9	90.00	9	90.00
APP555	8	5	5	100.00	5	100.00
APP504	7	5	5	100.00	5	100.00
APP412	5	5	4	80.00	4	80.00
APP522	4	4	4	100.00	4	100.00
APP574	7	7	7	100.00	5	71.43
合计(Total)	80	75	68	90.67	55	73.33

表 2 生物净化前后 APP 小鼠微生物及寄生虫检测结果  
Tab.2 Pathogen test results before and after Caesarian Section of APP mice

检测类别 Test category	检测项目 Test items	检测方法 Methods	生物净化前 Before decontamination			生物净化后 After decontamination			
			第 1 月 1st month	第 2 月 2nd month	第 3 月 3rd month	第 1 月 1st month	第 4 月 4th month	第 7 月 7th month	第 10 月 10th month
			1st	2nd	3rd	1st	4th	7th	10th
寄生虫 Parasites	鞭毛虫 Flagellates	GB/T18448. 10-2001	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	体外寄生虫(节肢动物) Ectoparasites	GB/T18448. 1-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	弓形虫 Toxoplasma gondii	GB/T18448. 2-2008( IHA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	纤毛虫 Ciliates	GB/T18448. 10-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	全部蠕虫 All Helminths	GB/T18448. 6-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	沙门菌 Salmonella spp.	GB/T174926. 1-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
病原菌 Pathogens	支原体 Mycoplasma spp.	GB/T174926. 8-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	鼠棒状杆菌 Corynebacterium kutscheri	GB/T174926. 9-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	泰泽病原体 Tyzzer's Organism	GB/T174926. 10-2008( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	嗜肺巴斯德杆菌 Pasteurella pneumotropica	GB/T174926. 12-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	肺炎克雷伯杆菌 Klebsiella pneumoniae	GB/T174926. 13-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	金黄色葡萄球菌 Staphylococcus aureus	GB/T174926. 14-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	绿脓杆菌 Pseudomonas aeruginosa	GB/T174926. 17-2001	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	鼠痘病毒 Ectromelia Virus	GB/T174926. 20-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	小鼠肝炎病毒 Mouse Hepatitis Virus	GB/T174926. 22-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	仙台病毒 Sendai Virus	GB/T174926. 23-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
病毒 Virus	小鼠肺炎病毒 Pneumonia Virus of Mice	GB/T174926. 24-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	呼肠孤病毒 III 型 Reovirus type III	GB/T174926. 25-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10
	小鼠细小病毒 Minute Virus of Mice	GB/T174926. 28-2001( ELISA)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/10	0/10

注:表中检测方法均参照 GB 14922. 2-2011《实验动物 微生物学等级及监测》<sup>[2]</sup>和 GB 14922. 1-2001《实验动物 寄生虫学等级及监测》<sup>[3]</sup>中的规定。

Note: All the methods mentioned above were conducted according to GB 14922. 2-2011 Laboratory animal-Microbiological standards and monitoring<sup>[2]</sup> and GB 14922. 1-2001 Laboratory animal-Standards and monitoring for parasitology<sup>[3]</sup>.



注: M ,Marker( 100 ~200bp) ; 1 ,阴性对照; 2 ,阳性对照; 3 ~23 ,待测小鼠目的片段 PCR 产物。

图 1 21 例 APP 小鼠 APPsue 基因 PCR 鉴定凝胶电泳图

Note: M ,Marker( 100 ~200bp) ; 1 ,negative control ; 2 ,positive control; 3 ~23 , PCR products of APP mice.

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis results of 21 APP mice PCR products of APPsue gene

虽然有其他生物净化研究<sup>[9]</sup>提示在普通环境也可进行剖腹产,但是本研究所用基因工程小鼠由于基因组经过人为改造,可能存在免疫系统的缺陷,因此与其他常规品系小鼠剖腹净化手术相比,要更注重剖腹过程的无菌操作,并且结合体内寄生虫不易

清除的特性,因此本研究所有操作均在 SPF 级屏障设施内实施。分离母鼠子宫与剖子宫取仔鼠需在两个超净工作台内,分别由不同术者完成,防止交叉污染,从而最大限度地保证仔鼠的清洁。每实施一例手术需换一套洁净的手术器械和玻璃器皿,并

且每批手术完成后需对手术环境用 2% 过氧乙酸喷雾消毒。代乳鼠的饲养笼需在超净工作台内开启, 尽量使仔鼠处于超净工作台的洁净环境内进行代乳操作。并且在母鼠孕期及代乳过程中, 均需额外增加营养, 从而保证剖得仔鼠的正常发育及最终成活率。

剖得仔鼠的 7 日龄存活率( 90. 67% , 68/75) 与离乳存活率( 73. 33% , 55/75) 均较高( 表 1) , 优于其他生物净化文献<sup>[10, 11]</sup>。孕鼠剖腹时机的选取是仔鼠存活的关键, 本研究参照文献<sup>[12]</sup>并结合经验选取孕 18. 5 天母鼠实施剖腹手术, 取得了较好的效果。但是, 表 1 中 AD417 和 AD401 小鼠剖腹所得仔鼠离乳存活率较低, 分别为 36. 6% 和 22. 2% ( 表 1) , 考虑是由于孕鼠的个体差异导致仔鼠未发育完全即被剖出, 因此对剖腹时机的判断必须结合孕期天数及临产指征<sup>[12]</sup>进行综合判断。

本研究首次选用 SPF 级帕金森病转基因经产母鼠进行代乳, PD 小鼠与 APP 小鼠除了所转入的基因有差异外, 其遗传背景均为 B6C3 杂交鼠, 因此其较适宜用作 APP 小鼠的代乳鼠。PD 小鼠平均在 8 ~ 12 月龄会出现帕金森病相关临床指征<sup>[13]</sup>, 因此本研究选取 3 ~ 6 月龄的 PD 小鼠作为代乳鼠, 减小 PD 小鼠发病对代乳所产生的影响。选用转基因鼠作为代乳鼠还未见报道, 代乳过程需要结合转基因鼠的生物学发育及相关的疾病病程特征, 尽量降低小鼠转入基因的相关遗传性状对代乳的影响。

净化前, APP 小鼠肠道鞭毛虫感染率为 100% ( 5/5) , 净化后的历次检测中 SPF 级要求的微生物和寄生虫指标均为阴性( 表 2) , 提示剖腹产净化可有效去除该 APP 小鼠种群的肠道鞭毛虫。实验动物肠道内的鞭毛虫种类较多, 多数为非致病性<sup>[14]</sup>, 本研究在净化前并未对小鼠体内的鞭毛虫进行种类鉴定。由于鞭毛虫不会垂直传播, 因此剖腹产技术理论上可以净化所有种类肠道鞭毛虫, 但还需进一步研究以明确。

纯合状态下 *APP<sup>swe</sup>* 基因的连锁会导致小鼠死亡<sup>[15]</sup>, 采用杂合子保种繁殖所得 APP 小鼠 F1 代 *APP<sup>swe</sup>* 基因阳性率符合孟德尔遗传规律 50% 阳性率理论值(  $t = -0. 447, P > 0. 05$ ) , 提示净化后的小鼠种群能够稳定表达所转入的外源基因。卢笑丛等<sup>[11]</sup>研究提示剖腹产净化小鼠种群会使远交系小鼠基因杂合程度降低, 本研究 APP 小鼠品系为近交系, 基因纯合程度高, 并不会受到明显影响, 但在今后对其他基因工程小鼠进行生物净化需要注意维持小鼠的基因性状。

综上所述, 剖腹产净化可以有效去除 APP 转基因小鼠肠道鞭毛虫感染, 且剖腹实验各条件在各动物饲养及研究机构均较易践行, 可为今后其他品系基因工程小鼠的剖腹产净化提供依据。

#### 参考文献:

- [1] 高诚, 符杰, 王胜昌. 实验大鼠、实验小鼠肠道鞭毛虫种类和检索[J]. 中国兽医寄生虫病. 2000, 8(2): 9-11.
- [2] 中国医学科学院医学实验动物研究所, 中国质检出版社第一编辑室. GB 14922. 2-2011 实验动物 微生物学等级及监测[S]. 中国质检出版社, 中国标准出版社. 2011.
- [3] 中国医学科学院医学实验动物研究所, 中国质检出版社第一编辑室. GB 14922. 2-2011 实验动物 寄生虫学等级及监测[S]. 中国质检出版社, 中国标准出版社. 2011.
- [4] 林开铅, 李莉莎, 程由注, 等. 福建省 2007—2008 年清洁级以上实验动物寄生虫检测结果分析[J]. 福建畜牧兽医. 2008, 30(5): 3-4.
- [5] 隋丽华, 范薇, 杨敬, 等. 实验动物微生物、寄生虫抽样调查及分析[J]. 实验动物与比较医学. 2008, 28(4): 259-262.
- [6] 张业彬, 邢瑞昌, 贺争鸣, 等. SD 大鼠的剖腹产净化[J]. 实验动物科学与管理. 2002, 19(4): 44-46.
- [7] Hickman DL, Thompson KJ. Multi-phase approach to eradicate enzootic mouse coronavirus infection[J]. Contemporary Topics in Laboratory Animal Science. 2004, 43(5): 22-28.
- [8] Yeom SC, Yu SA, Choi EY, et al. Prevalence of Helicobacter hepaticus, murine norovirus, and Pneumocystis carinii and eradication efficacy of cross-fostering in genetically engineered mice[J]. Experimental Animals. 2009, 58(5): 497-504.
- [9] 范薇, 马静, 蔡进芬, 等. 使用超净工作台实施子宫摘除术净化 ICR 小鼠的研究[J]. 青海畜牧兽医杂志. 2007, 37(4): 11-12.
- [10] 乔欣, 李胜利, 焦昆, 等. ICR 母鼠代乳在长爪沙鼠剖腹产净化中的应用[J]. 实验动物科学. 2011, 28(2): 37-43.
- [11] 卢笑丛, 徐国景, 戴涌, 等. 使用超净工作台实施子宫摘除术净化 KM 小鼠的研究[J]. 中国实验动物学报. 2003, 11(4): 208-210.
- [12] 周淑佩, 张阔, 胡建国, 等. 基因工程小鼠剖宫取胎的适宜条件[J]. 实验动物科学与管理. 2005, 22(1): 9-11.
- [13] Oaks AW, Frankfurt M, Finkelstein DI, et al. Age-Dependent Effects of A53T Alpha-Synuclein on Behavior and Dopaminergic Function[J]. PLoS One. 2013, 8(4): e60378. 2013; 8(4): e60378.
- [14] 胡建华, 姚明, 崔淑芳. 实验动物学教程[M]. 上海科学技术出版社. 2009, 308-309.
- [15] Hsiao KK, Borchelt DR, Olson K, et al. Age-related CNS disorder and early death in transgenic FVB/N mice overexpressing Alzheimer Amyloid Precursor Proteins [J]. Neuron. 1995, 15(5): 1203-1218.

(修回日期)2012-0-0