

Rag2 敲除小鼠脏器重量、血液生理生化指标及免疫细胞的研究

王 宇, 吴旭颖, 魏诏盛, 吴金峰, 刘会真, 田玉书, 张文明, 杨志伟

(北京华阜康生物科技股份有限公司, 北京 102200)

【摘要】 目的 检测 SPF 级 *Rag2* 敲除小鼠的脏器重量, 血生理生化等生物学特性指标和免疫细胞。**方法** 分别选 5、10 周龄的 *Rag2* 敲除 (knockout, KO) 小鼠测定主要脏器重量, 并测定主要血生理、生化指标。选取 6 周龄 *Rag2* KO 小鼠, 应用流式细胞仪检测细胞免疫 (T 细胞-CD3⁺、T 细胞亚群-CD4⁺、CD8⁺)、体液免疫 (B 细胞-CD19⁺、B220⁺)、NK 细胞 (NK1.1⁺) 和粒细胞 (CD11b⁺) 进行检测。**结果** 同性别 NOD/SCID 小鼠, 10 周小鼠脑、肺脏、脾脏、肝脏、心脏、双肾脏重、TBIL、WBC 高于 5 周龄。同周龄的雌雄相比, 雄性小鼠心脏、双肾脏、肝脏、脾脏重量、AST、ALP、A/G、GLU、PLT、PCT、WBC、LYM% 高于雌性。*Rag2* KO 小鼠无 T 细胞 (0.36 ± 0.15)%、CD4⁺ T 细胞 (0.21 ± 0.06)%、CD8⁺ T 细胞 (0.23 ± 0.07)%、CD19⁺ B 细胞 (0.28 ± 0.04)% 和 B220⁺ B 细胞 (2.03 ± 0.42)%。NK 细胞比例为 (24.13 ± 3.62)%, 粒细胞比例为 (57.20 ± 3.85)%。**结论** *Rag2* KO 小鼠与 C57BL/6J 小鼠的主要生物学特性基本一致。周龄和性别因素对其脏器重量、血生理生化指标都有一定的影响。*Rag2* KO 小鼠 T、B 淋巴细胞缺失。

【关键词】 *Rag2* 敲除小鼠; 脏器重量; 血生理生化指标; 免疫细胞

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 05-0056-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.005.012

The study on organ weights, blood physiological and biochemical parameters and immune cells in *Rag2* knockout mice

WANG Yu, WU Xu-ying, WEI Zhao-sheng, WU Jin-feng, LIU Hui-zhen,
TIAN Yu-shu, ZHANG Wen-ming, YANG Zhi-wei
(Beijing HFK Bioscience Co., LTD, Beijing 102200, China)

【Abstract】 Objective To measure the organ weights, blood physiological and biochemical parameters, and immune function of Specific Pathogen Free (SPF) *Rag2* knockout (KO) mice. **Methods** *Rag2* knockout mice were selected at five and ten weeks, and the organ weights, blood physiological and biochemical parameters were observed. The percentages of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD19⁺, B220⁺, NK1.1⁺, and CD11b⁺ were checked by FCM in *Rag2* KO mice at six week of age in terms of its T, B lymphocyte function and NK cell activity. **Results** Among the same sex group of NOD/SCID mice, the weights of brain, lung, spleen, liver, heart, kidney, and the levels of TBIL, WBC in 10 weeks of age are higher than 5 weeks. At the same age, the weights of heart, kidney, liver, spleen, and the levels of AST, ALP,

【基金项目】 科技部“重大新药创制”科技重大专项—啮齿类研发平台—创新药物研究开发技术平台建设(2011ZX09307-302-03)。

【作者简介】 王宇(1984-), 女, 助理研究员, 硕士, 预防兽医学。

【通讯作者】 杨志伟(1969-), 男, 博士, 研究员, 生理学专业。Email: yangzhiwei@hfkbio.com。

A/G, GLU, PLT, PCT, WBC, and LYM% in male mice are higher than females. The *Rag2* KO mice lacks T cells(0.36 ± 0.15)%、CD4 + T cells(0.21 ± 0.06)%、CD8 + T cells(0.23 ± 0.07)%、CD19 + B cells(0.28 ± 0.04)%、B220 + B cells(2.03 ± 0.42)%。The percentage of NK cells is(24.13 ± 3.62)%, and the percentage of granulocytes is(57.20 ± 3.85)%。 **Conclusion** The study suggests that the organ weights, blood physiological and biochemical parameters are affected by age and gender in *Rag2* KO mice, which main biological characteristics are similar with C57BL/6J mice. The *Rag2* KO mice show the deficiency of T, B cells function.

【Key words】 *Rag2* knockout mice; Organ weights; Blood physiological and biochemical parameters; Immune cells

Rag2 是由白细胞介素 4 与 costimuli(脂多糖等细胞因子)结合后表达于成熟小鼠 B 细胞, *Rag2* 基因长度大约 18 kb, 在 V(D)J 基因重排和淋巴系细胞发育中的关键性作用^[1-4]。 *Rag2* KO 小鼠的表现型是严重的 T/B 细胞早期发育阻滞, T 细胞停滞于 CD3-CD4-CD8-CD25 + 阶段, 而 B 细胞停滞于 B220-CD43 + IgM- B 细胞阶段。它们的外周血没有成熟的循环 T/B 淋巴细胞, 这与人重症联合免疫缺陷综合征 SCID 非常相似, 并且都有 V(D)J 基因重排缺陷。

纯合的 *Rag2* KO 小鼠是整个 *Rag2* 蛋白编码区缺失。但是, 该小鼠可以生长繁殖。 *Rag2* 突变小鼠具有第三外显子目标基因的缺失。美国 The Jackson Laboratory 公司描述了纯合的 *Rag2* KO 小鼠、 *Rag2* 第三外显子突变小鼠以及 *Rag2* 第三外显子未发生突变的小鼠具有同样的表型。鉴于该小鼠的这种表型, 可用于免疫学、血液学、肿瘤、炎症反应等多领域的生命科学研究。

该小鼠自国外引进以来, 饲养条件与国外发生了一定的变化, 但是, 我国还没有关于该小鼠系统的基础生理生化参数的研究和报道, 本研究拟对 *Rag2* KO 小鼠的脏器重量、血液生理生化指标及免疫细胞进行测定, 为我国科研人员利用该小鼠进行生命科学研究和生物医药研发提供基础参考资料。

1 材料和方法

1.1 实验动物

取 SPF 级 *Rag2* KO 小鼠 5、10 周龄各 24 只, 雌、雄比例 1:1, 共计 48 只, 用于脏器和血生理生化检测; 取 6 周龄的 *Rag2* KO 小鼠 4 只, 雌、雄比例 1:1, 用于免疫细胞检测。所有动物均由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 生产许可证号为: SCXK(京)2009-0004。

1.2 饲养环境

Rag2 KO 小鼠均饲养在符合国家相关标准的隔离环境内, 隔离环境的洁净度标准为 5 级, 温度控制

为 22℃ ~ 26℃, 相对湿度为 40% ~ 70%, 每小时换气 20 次, 明暗周期为 12 h:12 h, 动物自由采食和饮水。

所用饮水、垫料均经高压灭菌, 饲料为自行配制加工的全价颗粒繁殖饲料并经⁶⁰Co 照射灭菌, 该产品为北京华阜康生物科技股份有限公司生产, 产品编号为小鼠繁殖饲料 1035, 生产许可证号为: SCXK(京)2009-0008。营养成分为: 粗蛋白 ≥ 23.0%、粗脂肪 ≥ 5.0%、粗灰分 ≤ 7.0%、粗纤维 ≤ 5.0%、水份 ≤ 10%、钙 1.4% ~ 1.5%、磷 1.0% ~ 1.1%、赖氨酸 ≥ 1.32%、蛋氨酸 + 胱氨酸 ≥ 0.78%。水为酸化过滤自来水(pH = 2.7 ~ 3.0)并经 121℃ 30 min 高压蒸汽灭菌, 使用的垫料等物品均经过 132℃ 30 min 高压蒸汽灭菌, 每周更换 1 次垫料, 饲料和水自由摄取。每周更换 1 次垫料, 进出隔离环境的物品进行严格消毒, 并严格遵守隔离系统动物实验室标准操作及管理规程。

1.3 实验环境

动物实验于中国医学科学院实验动物研究所解剖实验室, 实验动物使用许可证号为: SYXK(京)2013-0019。

1.4 仪器及试剂

法国 ABX Pentra DX 120 血细胞分析仪和配套试剂、日立 7100 全自动生化分析仪和配套试剂、美国贝克曼 Allegra 64R 台式高速冷冻离心机、美国 BD 公司流式细胞仪(FACS)、红细胞裂解液(碧云天生物技术研究所)。

1.5 实验方法

1.5.1 体重和脏器重量的测定: 实验前禁食 12 h, 禁水 1 h, 用电子天平称取 5、10 周龄小鼠体重, 眼眶采血后脱颈椎处死, 立即剖取脾脏、肝脏、肾脏、心脏、肺脏、脑, 并用滤纸吸干组织表面的水分, 称取重量。

1.5.2 血生化指标测定: 将剩余的全血取 0.8 mL 到离心管内, 3000 r/min, 离心 10 min 后取血清, 进行血生化测定。15 项血清生化指标为: 总蛋白

(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)、白蛋白/球蛋白(A/G)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、血糖(GLU)、总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、总胆红素(TBIL)、尿素(UN)、肌酐(CREA)、无机磷(P)、血钙(Ca)。

1.5.3 血生理指标测定:从小鼠眼眶后静脉丛采血,取 0.2 mL 血液到 EDTA2k 抗凝管内,进行血生理测定。12 项血生理指标为:血红蛋白(HGB)、红细胞(RBC)计数、白细胞(WBC)计数、淋巴细胞%(LYM%)、血小板(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板压积(PCT)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞体积分布宽度(RDW)。

1.5.4 免疫细胞检测方法:采用小鼠摘眼球取血法取 300 μ L 外周血,经红细胞裂解液去除红细胞后,将细胞用 1% BSA/PBS 洗两次后分为两管备用。其中一管用 PerCP-Cy5.5-CD3、APC-Cy7-CD4、FITC-CD8 和 PE-Cy7-NK1.1 染色 30 min,另一管用 PerCP-Cy5.5-CD3、FITC-B220 和 APC-Cy7-CD11b 染色 30 min,洗后用流式细胞仪(FACS, Aria)检测并用 FCS Express V3.0 软件分析数据。免疫细胞测定:T 细胞(CD3 +、CD4 +、CD8 +)、B 细胞(CD19 +、B220 +)、NK 细胞(NK1.1 +)、粒细胞(CD11b +)。

1.6 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行单因素方差统计分析,以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm S$)表示,显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 Rag2 KO 小鼠脏器检测结果

表 1 可见,同周龄的 Rag2 KO 小鼠相比,雄性小鼠心脏、双肾脏、肝脏、脾脏重量高于雌鼠($P < 0.05$);同性别的 Rag2 KO 小鼠相比,10 周小鼠脑、肺脏、脾脏、肝脏、心脏、双肾脏重量高于 5 周小鼠($P < 0.05$)。

2.2 Rag2 KO 小鼠血液生化检测结果

由表 2 可见,同周龄的 Rag2 KO 小鼠相比,雄性小鼠 AST、ALP、A/G、GLU 高于雌性小鼠,CHO、TG、TP、GLOB 低于雌性小鼠($P < 0.05$);同性别的 Rag2 KO 小鼠相比,5 周小鼠 TG、UN、CREA、ALP 高于 10 周小鼠,TBIL 低于 10 周小鼠($P < 0.05$)。

2.3 Rag2 KO 小鼠血液生理检测结果

由表 3 可见,同周龄的 Rag2 KO 小鼠相比,雄性小鼠 PLT、PCT、WBC、LYM% 高于雌性小鼠($P < 0.05$);同性别的 Rag2 KO 小鼠相比,10 周小鼠 RDW 低于 5 周小鼠,WBC 高于 5 周小鼠($P < 0.05$)。

2.4 Rag2 KO 小鼠免疫细胞测定结果

图 1 显示的是一只 Rag2 KO 小鼠外周血中 T 细胞及其亚群、B 细胞、NK 细胞和粒细胞的百分比。由图 2 可见,Rag2 KO 小鼠外周血无 T 细胞(0.36 ± 0.15)%、CD4 + T 细胞(0.21 ± 0.06)%、CD8 + T 细胞(0.23 ± 0.07)%、CD19 + B 细胞(0.28 ± 0.04)% 和 B220 + B 细胞(2.03 ± 0.42)%。NK 细胞比例为(24.13 ± 3.62)%,粒细胞比例为(57.20 ± 3.85)%。

表 1 Rag2 KO 小鼠主要脏器重量(单位:g)
Tab.1 The organ weights of Rag2 KO mice(unit:g)

指标(Index)	雌(Female)		雄(Male)	
	5 周龄	10 周龄	5 周龄	10 周龄
	5 weeks (n = 12)	10 weeks (n = 12)	5 weeks (n = 12)	10 weeks (n = 12)
体重(Weight)	14.19 $\pm$ 0.9	16.26 $\pm$ 0.8 ^b	16.05 $\pm$ 1.4 ^a	22.53 $\pm$ 1.8 ^{ab}
脑(Brain)	0.417 $\pm$ 0.021	0.436 $\pm$ 0.022 ^b	0.400 $\pm$ 0.023	0.432 $\pm$ 0.024 ^b
心脏(Heart)	0.100 $\pm$ 0.018	0.106 $\pm$ 0.017	0.115 $\pm$ 0.018	0.145 $\pm$ 0.024 ^{ab}
肺脏(Lung)	0.121 $\pm$ 0.016	0.137 $\pm$ 0.016 ^b	0.131 $\pm$ 0.010	0.153 $\pm$ 0.020 ^{ab}
肝脏(Liver)	0.568 $\pm$ 0.055	0.665 $\pm$ 0.065 ^b	0.673 $\pm$ 0.082 ^a	0.821 $\pm$ 0.087 ^{ab}
肾脏(左)(Left kidney)	0.099 $\pm$ 0.008	0.110 $\pm$ 0.014	0.111 $\pm$ 0.014	0.150 $\pm$ 0.017 ^{ab}
肾脏(右)(Right kidney)	0.107 $\pm$ 0.014	0.111 $\pm$ 0.012	0.115 $\pm$ 0.014	0.158 $\pm$ 0.025 ^{ab}
脾脏(Spleen)	0.015 $\pm$ 0.002	0.015 $\pm$ 0.002	0.019 $\pm$ 0.003 ^a	0.023 $\pm$ 0.004 ^{ab}

注:同周龄小鼠雌雄相比,“a”表示平 $P < 0.05$;同性别,不同周龄小鼠相比,“b”表示平 $P < 0.05$ 。
Note: compared with male and female mice of the same age, “a” means $P < 0.05$; compared with the different ages of the same gender, “b” means $P < 0.05$.

表 2 Rag2 KO 小鼠主要血生化指标检测结果
Tab. 2 Measurement of blood biochemistry of Rag2 knockout mice

指标 (Index)	雌 (Female)		雄 (Male)	
	5 周龄	10 周龄	5 周龄	10 周龄
	5 weeks (n = 12)	10 weeks (n = 12)	5 weeks (n = 12)	10 weeks (n = 12)
总蛋白 (TP) g/dL	4.73 ± 0.45	4.86 ± 0.35	5.58 ± 0.71 ^a	5.90 ± 0.30 ^a
白蛋白 (ALB) g/dL	3.244 ± 2.66	3.315 ± 2.21	3.13 ± 1.87	3.183 ± 1.52
球蛋白 (GLOB) g/dL	1.49 ± 0.21	1.55 ± 0.15	2.62 ± 0.25 ^a	2.72 ± 0.16 ^a
血清白/球蛋白 (A/G)	2.18 ± 0.17	2.15 ± 0.11	1.20 ± 0.47 ^a	1.17 ± 0.04 ^a
谷草转氨酶 (AST) U/L	252 ± 38	216 ± 46	193 ± 68 ^a	197 ± 58
谷丙转氨酶 (ALT) U/L	53 ± 13	62 ± 16	58 ± 16	56 ± 22
碱性磷酸酶 (ALP) U/L	211 ± 46	145 ± 11 ^b	208 ± 42	107 ± 11 ^{ab}
血糖 (GLU) mg/dl	124 ± 42	107 ± 36	66 ± 17 ^a	70 ± 28 ^a
胆固醇 (CHO) mg/dl	63 ± 9	68 ± 11	82 ± 10 ^a	80 ± 7 ^a
甘油三脂 (TG) mg/dl	148 ± 21	134 ± 51	184 ± 37 ^a	133 ± 18 ^b
总胆红素 (TBIL) mg/dl	0.19 ± 0.04	0.19 ± 0.05	0.15 ± 0.05 ^a	0.23 ± 0.07 ^b
尿素氮 (UN) mg/dl	81 ± 16	73 ± 11	76 ± 7	63 ± 7 ^{ab}
肌酐 (CREA) mg/dl	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.02 ^a	0.13 ± 0.01 ^{ab}
血清钙 (Ca) mg/dl	9.11 ± 0.29	9.05 ± 0.31	8.96 ± 0.27	8.91 ± 0.43
血清磷 (P) mg/dl	9.16 ± 2.06	9.63 ± 2.73	11.51 ± 1.27 ^a	10.60 ± 2.68

注:同周龄小鼠雌雄相比,“a”表示平 $P < 0.05$;同性别,不同周龄小鼠相比,“b”表示平 $P < 0.05$ 。
Note: compared with male and female mice of the same age, “a” means $P < 0.05$; compared with the different ages of the same gender, “b” means $P < 0.05$.

表 3 Rag2 KO 小鼠主要血生理指标检测结果
Tab. 3 Measurement of blood physiology of Rag2 knockout mice

指标 (Index)	雌 (Female)		雄 (Male)	
	5 周龄	10 周龄	5 周龄	10 周龄
	5 weeks (n = 12)	10 weeks (n = 12)	5 weeks (n = 12)	10 weeks (n = 12)
白细胞 (WBC) $10^3/\mu\text{L}$	0.94 ± 0.14	0.98 ± 0.43	1.37 ± 0.74	3.09 ± 1.86 ^{ab}
红细胞 (RBC) $10^6/\mu\text{L}$	9.13 ± 0.42	9.16 ± 0.32	9.32 ± 0.27	9.33 ± 0.30
血红蛋白 (HGB) g/dL	15.27 ± 0.60	15.20 ± 0.47	15.43 ± 0.45	15.34 ± 0.45
红细胞积压 (HCT) %	43.25 ± 1.18	43.13 ± 0.53	46.24 ± 8.30	46.74 ± 9.92
红细胞平均体积 (MCV) f L	47.08 ± 1.24	46.92 ± 0.90	46.92 ± 0.79	46.42 ± 0.79
红细胞平均血红蛋白量 (MCH) p g	16.73 ± 0.26	16.58 ± 0.24	16.53 ± 0.21	16.48 ± 0.23
平均血红蛋白浓度 (MCHC) g/dL	35.50 ± 0.55	35.48 ± 0.39	35.31 ± 0.58	35.44 ± 0.58
红细胞体积分布宽度 (RDW) %	13.60 ± 0.62	12.95 ± 0.42 ^b	14.04 ± 1.21	13.41 ± 0.56 ^b
血小板 (PLT) $10^3/\mu\text{L}$	609 ± 78	632 ± 100	745 ± 114 ^a	670 ± 101
平均血小板体积 (MPV) f L	5.42 ± 0.19	5.41 ± 0.13	5.43 ± 0.29	5.28 ± 0.15
血小板积压 (PCT) %	0.33 ± 0.04	0.33 ± 0.05	0.40 ± 0.05 ^a	0.36 ± 0.05
淋巴细胞百分数 (LYM) %	52.65 ± 8.32	55.39 ± 5.79	79.95 ± 9.23 ^a	78.00 ± 10.04 ^a

注:同周龄小鼠雌雄相比,“a”表示平 $P < 0.05$;同性别,不同周龄小鼠相比,“b”表示平 $P < 0.05$ 。
Note: compared with male and female mice of the same age, “a” means $P < 0.05$; compared with the different ages of the same gender, “b” means $P < 0.05$.

3 结论

实验动物脏器重量是鉴定动物遗传品质的重要依据,同时也是动物实验中常用的重要基础数据。本实验避开小鼠 6~8 周龄性成熟激素调节较为不稳定阶段,为防止对生理生化及脏器产生影

响,实验选取 5 周龄青年小鼠及 10 周龄壮年小鼠进行对比研究^[5]。本研究结果表明同性别不同周龄小鼠,随着周龄增加各脏器重量递增。同一周龄的雌性小鼠和雄性小鼠相比较,肝脏、脾脏、心脏及双肾脏器重量雄性小鼠大于雌性小鼠。本研究结果与 Jackson Laboratory 及 SLC 所公布的 C57BL/6J 小

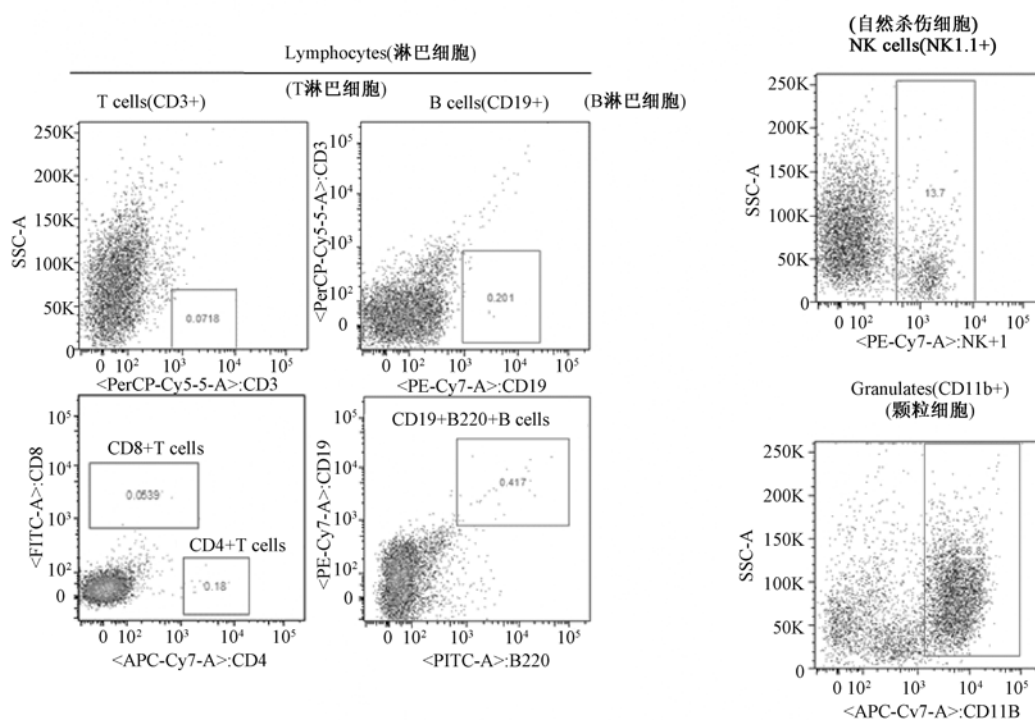


图 1 *Rag2* KO 小鼠外周血免疫细胞百分比

Fig. 1 The immune cells percentage of *Rag2* knockout mice peripheral blood

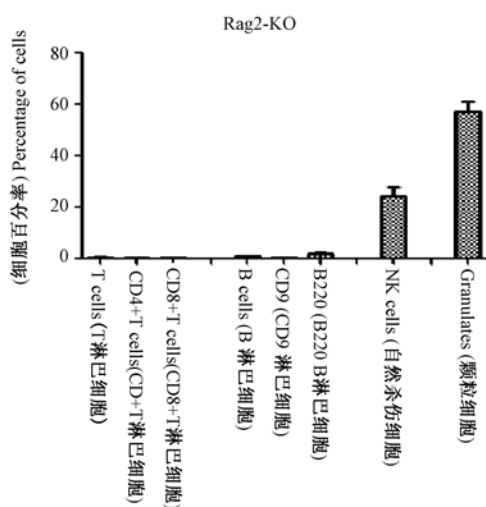


图 2 *Rag2* KO 小鼠免疫细胞百分比

Fig. 2 The immune cells percentage of *Rag2* knockout mice

鼠各脏器参数比较,除了脾脏偏低,其他脏器无显著性差异^[6-7]。脾脏偏低可能由于该小鼠为基因敲除小鼠引起,同时饲料、环境等因素也可引起该脏器重量偏低^[8]。

本实验对 *Rag2* KO 进行了 15 种血液生化指标的测定和初步统计。结果显示,同周龄的 *Rag2* KO 小鼠雄鼠和雌鼠相比,CHO、TP、GLOB 三个指标雄

性小鼠高于雌性小鼠;AST、ALP、A/G、GLU 四个指标雌性小鼠高于雄性小鼠。5 周与 10 周同性别的 *Rag2* KO 小鼠相比,TBIL 随着周龄增加而递增,TG、UN、CREA、ALP 随着周龄增加而递减。这是否是在一定时间内(如 3 个月以上)可能呈现规律性变化,还有待进一步研究。可见年龄及性别因素对部分血液生化指标的影响是十分明显的,但是也与品种品系不同、饲养环境不同等多种因素有关,切不可一概而论^[9-10]。本研究结果与 Jackson Laboratory、Charles river 及 SLC 所公布的 C57BL/6J 小鼠血液生化指标比较,Jackson Laboratory、Charles river 两个公司公布的数据偏低,比 SLC 所公布的数据普遍偏高,可能由于动物品系不同有一定差异,*Rag2* KO 小鼠为免疫缺陷小鼠,在外界更易产生应激使机体产生一系列生理生化变化,且缺少免疫细胞,易对外界刺激产生炎症反应。而 C57 为正常健康小鼠,不会对外界产生过于敏感的反应,生理生化值也相对稳定。同时由于饲料及环境等因素的影响也会导致生化指标的偏差^[6-7,11]。

本实验对 *Rag2* KO 进行了 12 种血液生理指标的测定和初步统计。结果显示,同周龄的 *Rag2* KO 小鼠雄鼠和雌鼠相比,PLT、PCT、WBC、LYM% 雄性小鼠高于雌性小鼠;5 周与 10 周同性别的 *Rag2* KO

小鼠相比, RDW10 随着周龄增加而递减, WBC 随着周龄增加而递增。根据医学资料显示, RDW 随周龄增大而减少, 可能由于贫血造成; 同时, WBC 随周龄增加而增加, 显示白细胞炎症增加。由于 *Rag2*-KO 为免疫缺陷小鼠, 该两个指标的变化, 初步推断由于该品系小鼠的生物学特性导致。本研究结果与 Jackson Laboratory、Charles river 及 SLC 所公布的 C57BL/6J 小鼠部分血液生理指标比较, 无显著差异^[6-7,11]。

Rag2 KO 小鼠表现型为严重的 T/B 细胞早期发育组滞。它的外周血没有成熟的循环 T/B 淋巴细胞, 但是存在 NK 细胞 (NK1.1 +) 和粒细胞 (CD11b +), 这与人重症联合免疫缺陷综合征 SCID 非常相似^[12]。由于该基因小鼠特殊繁殖方式, 为避免母体的抗体对 *Rag2* KO 小鼠免疫检测造成干扰, 特选离乳后 2~3 周动物, 即 6 周龄小鼠进行检测。因此我们通过标记 6 周龄 *Rag2* KO 小鼠全血中的 CD3 +、CD4 +、CD8 +、CD19 +、B220 +、NK1.1 +、CD11b + 抗体检测 *Rag2* KO 小鼠体内不同的免疫细胞情况, 证实 *Rag2* KO 小鼠表现为明显的 T、B 细胞联合免疫缺陷。*Rag2* KO 小鼠作为免疫缺陷动物, 在异种移植及移植宿主的肿瘤研究和毒理学研究上得到了广泛的应用。

由于国内 *Rag2* KO 小鼠研究刚起步, 因此未见此动物脏器重量、血生理生化指标的报道。本研究为生物医学研究提供了基础数据。*Rag2* KO 小鼠作为实验动物在国内尚属先例, 所以对它的一些基本生物学特性尚缺乏系统的研究。由于此动物现已形成一定规模, 群体相对稳定, 其生物学特性和健康状况也相对稳定, 因此, 记录和结果数据较为集中, 本实验对该动物的主要血液生化指标的检测具有一定的参考意义, 为其在生物医学领域中的应用

提供了基础数据。

参考文献:

- [1] Corneo B, Moshous D, Gungor T, *et al.* Identical mutations in RAG1 or RAG2 genes leading to defective V(D)J recombinase activity can cause either T-B-severe combined immune deficiency or Omenn syndrome[J]. *Blood*, 2001, 97: 2772-2776.
- [2] Adams J, Kelso R, Cooley L. The kelch repeat superfamily of proteins: propellers of cell function[J]. *Trends Cell Biol*, 2000, 10: 17-24.
- [3] Corneo B, Wendland R L, Deriano L, *et al.* Rag mutations reveal robust alternative end joining[J]. *Nature*, 2007, 449: 483-486.
- [4] Hikida M, Mori M, Takai T, *et al.* Reexpression of RAG-1 and RAG-2 genes in activated mature mouse B cells[J]. *Science*, 1996, 274: 2091-2093.
- [5] 李厚达. 实验动物学(2)[M], 中国农业出版社, 2003: 100-103.
- [6] 日本 SLC 公司 1998-实验动物数据集[M], 1998, 28.
- [7] <http://jaxmice.jax.org/support/phenotyping/B6data000664.pdf>
- [8] 席晓霞, 白德成, 魏虎来, 等. 两种转基因小鼠生长繁殖方法的研究[J]. *实验室科学*, 2013, 6(16): 25-27.
- [9] 齐娜, 郭建强, 苏忆兰, 等. SPF 级 Wistar 种 8 周龄大鼠血液学指标及生化指标正常参考值的探讨[J]. *卫生研究*, 2002, 31(6): 474-475.
- [10] 齐云, 蔡润兰, 王敏, 等. 新药长毒试验动物血液生化测定规范化研究系列之六—SPF 级 Wistar 大鼠血液生化参考值的建立[J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16(4): 197-200.
- [11] http://www.criver.com/files/pdfs/rms/c57bl6/rm_rm_r_c57bl6_mouse_clinical_pathology_data
- [12] Callebaut I, Mornon J P. The V(D)J recombination activating protein RAG2 consists of a six-bladed propeller and a PHD fingerlike domain, as revealed by sequence analysis[J]. *Cell. Molec. Life Sci.*, 1998, 54: 880-891.

[修回日期]2014-04-04