

金悠,倪岚,魏琦,等. 模式小鼠批量鉴定方法的探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(1): 86-91.

Jin Y, Ni L, Wei Q, et al. Batch identification methods for model mice [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(1): 86-91.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.01.009

模式小鼠批量鉴定方法的探讨

金悠¹,倪岚¹,魏琦²,赵欢²,何金钢^{2*}

(1.华中科技大学基础医学国家级实验教学示范中心,武汉 430030;

2.华中科技大学同济医学院基础医学院药理学系,武汉 430030)

【摘要】 目的 为模式小鼠基因型批量鉴定工作建立高效的DNA提取方法。方法 以鼠尾组织为实验材料,采用碱煮简化法、碱煮常规法、蛋白酶K裂解法和DNA提取试剂盒4种方法提取模式小鼠DNA,测定DNA模板纯度、浓度,评价凝胶电泳图的优劣,并比较4种方法所耗时及实验成本。结果 蛋白酶K裂解法提取的DNA浓度最高,碱煮简化法和常规法次之;试剂盒处理所得的DNA纯度较高,碱煮简化法次之。4种方法处理所得的DNA模板通过聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)扩增、凝胶电泳后均可得到清晰的DNA目的条带。此外,碱煮简化法提取的DNA模板在-20℃保存1个月后仍可用于基因鉴定,且耗时最少、成本最低。结论 模式小鼠批量鉴定基因型时,碱煮简化法是目前最简便、最快捷、最经济的DNA模板提取方法。

【关键词】 基因型鉴定;DNA提取;聚合酶链反应;模式小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2025)01-0086-06

Batch identification methods for model mice

JIN You¹, NI Lan¹, WEI Qi², ZHAO Huan², HE Jingang^{2*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Basic Medical Education, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China. 2. Department of Pharmacology, School of Basic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030)

【Abstract】 **Objective** To establish an efficient DNA extraction method for the batch identification of genotypes in model mice. **Methods** We extracted total DNA from transgenic mouse tails using four methods: alkaline simplified group, alkaline routine group, protease K cleavage group and DNA extraction kit group. The purity and concentration of DNA obtained by the four methods were measured, the effects of gel electrophoresis were evaluated, and the time and experimental costs of the four methods were compared. **Results** The protease K cleavage method produced the highest concentration of DNA, followed by the simplified alkaline boiling and routine alkaline boiling method. The reagent kit produced the highest DNA purity, followed by the simplified alkaline boiling method. The DNA templates obtained by the four methods could be amplified by polymerase chain reaction and gel electrophoresis to obtain clear DNA target bands. In addition, the DNA template extracted by the simplified alkaline boiling method could be used for gene identification after storage at -20℃ for 1 month, as well as requiring the least

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(82273911)。

【作者简介】金悠(1972—),女,硕士,高级工程师,研究方向:神经精神药理。E-mail:jinyou81@163.com

【通信作者】何金钢(1988—),男,博士,副教授,研究方向:神经精神药理。E-mail:hjg1988@163.com

time and lowest costs. **Conclusions** The simplified alkaline boiling method is currently the simplest, fastest, and most economical DNA template-extraction method for batch identification of genotypes in model mice.

【Keywords】 genotype identification; DNA extraction; PCR; model mice

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着基因工程技术的不断发展和完善,越来越多的模式小鼠在生命科学领域中受到众多科研人员的青睐,在人类疾病致病分子机制及临床研究中发挥着重要的作用。模式小鼠在繁殖过程中,需要不断对其子代进行基因型鉴定,因而建立快速、稳定、准确、经济的基因型鉴定方法具有非常重要的实际应用价值。在 CNKI 中国知网学术文献总库上以“基因鉴定、小鼠”为关键词搜索 2023 年 2 月至 2024 年 1 月间已在刊物上发表的模式小鼠鉴定方法,共有 6 篇文献采用 DNA 提取试剂盒^[1-6]、4 篇采用蛋白酶 K 裂解法^[7-10]、1 篇采用碱煮常规法^[11]。这表明曾经广泛使用的 DNA 提取法苯酚-氯仿法^[12-13](氯仿有神经毒性)已被淘汰。然而,目前使用最多的商业试剂盒成本昂贵,耗时费力,为了快速、经济地进行模式小鼠的基因型鉴定,本研究针对碱煮简化法、碱煮常规法、蛋白酶 K 裂解法和 DNA 提取试剂盒法 4 种不同方法进行比较,检测所提取 DNA 模板的纯度、浓度,评价凝胶电泳图的优劣,对比 4 种方法所耗时长及实验成本,以期为模式小鼠基因型鉴定建立一个稳定、快速、经济的提取技术。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本研究选用了 32 只 4 周 SPF 级雄性 MC4R-loxp 小鼠,体重 13~16 g,为基因鉴定实验对象。MC4R-loxp 小鼠最初购买于美国 JACKSON 实验室,在华中科技大学同济医学院 SPF 级屏障系统动物实验室[SCXK(鄂)2021-0009]进行繁殖和扩增[SYXK(鄂)2021-0057]。该屏障系统的洁净度为 7 级标准,控制温度在(24±2)℃之间,相对湿度在(50±10)%之间,换气次数每小时 15 次,12 h/12 h 明/暗循环,动物自由进食水。本实验在华中科技大学实验动物伦理委员会监督下进行,确认符合动物伦理学要求(IACUC-20233877)和实验动物保护的相关规定。在实验中,动物繁殖饲养及实验过程均按照实验动物使

用的 3R 原则给予了人道主义关怀。

1.2 主要试剂与仪器

NaOH(天津市天为化学试剂有限公司, F20111020);EDTA(国药集团化学试剂有限公司,20230817);琼脂糖(西班牙 Hispanagar 公司,212415);DNA marker(北京天根生化科技有限公司, Y1626、Y1721);2×Taq PCR Mastermix(北京天根生化科技有限公司,01031、17723);核酸染料(北京天根生化科技有限公司, X1031);组织基因 DNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司, Y2113);蛋白酶 K(美国 cell signaling technology 公司,10012),其他试剂均为分析纯国产试剂。引物(HG240 1110008)由武汉英骏科技有限公司合成。

高压灭菌锅(日本 Hirayama 公司, HVE-50);迷你金属恒温加热器(杭州米欧仪器有限公司, MINIB-100I);高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司,5424R);微量分光光度计(德国 Implen 公司, P-360-DEMO);PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司, T100™);电泳仪(美国 E-C Apparatus 公司, EC250-90);琼脂糖水平电泳槽(北京六一仪器厂, DYCP-31CN);凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司, GelDoc XR+)。

1.3 实验方法

1.3.1 样本制备

准备手术剪、酒精棉球、消毒干棉球及 1.5 mL EP 管。剪取 2~4 mm 左右鼠尾,置于 EP 管中。

1.3.2 DNA 提取

(1) 碱煮简化法

向有鼠尾的 EP 管中加入 180 μL NaOH 溶液(50 mmol/L),95℃孵浴 90 min,12 000 r/min 常温离心 10 min,上清即为 DNA 模板。

(2) 碱煮常规法

按如下比例配置 DNA 裂解液:EDTA(0.5 mol/L):NaOH(50 mmol/L)=1:450 取装有鼠尾的印管,向每个鼠尾样本 EP 管中加入 180 μL

DNA 裂解液, 95 °C 孵浴 90 min, 加入 20 μ L Tris-HCl (1 mol/L, pH=8.0) 混匀最后 12 000 r/min 常温离心 10 min, 上清即为 DNA 模板。

(3) 蛋白酶 K 裂解法

按照下列配方配置裂解液: 硫酸铵 0.110 g、氯化镁 0.032 g、Tris 0.406 g、Triton X-100 2.5 mL, 双蒸水定容至 500 mL, 高压灭菌后待用, 临用前将裂解液与 β -巯基乙醇 (β -mercaptoethanol, β -ME) 按 100:1 配制成混合液, 向有鼠尾的 Ep 管中加入 180 μ L 混合液, 95 °C 反应 10 min, 离心并冷却至室温, 每管加入 10 μ L 蛋白酶 K (10 mg/mL), 55 °C 孵育 12 h 最后样本 12 000 r/min 离心 5 min, 上清即为 DNA 模板。

(4) DNA 提取试剂盒法

使用 TIANGEN 血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒, 依据说明书 (版本号: DP210831) 进行操作。最后取 50 μ L 洗脱缓冲液 (DNA 模板) 置于 4 °C 备用, 长期保存放于 -20 °C 冷冻。

1.3.3 DNA 质量和浓度测定

利用微量分光光度计, 取 1 μ L 按照各种方法提取的 DNA 模板, 在 260 nm 和 280 nm 测定其吸光度值, 仪器自动计算 260 nm/280 nm 的吸光度比值和 DNA 浓度。吸光度 (A260/A280) 的比值在 1.8~2.0 的范围内表示所获得的 DNA 较为纯净, 而低于 1.0 则说明有蛋白质污染^[14-15]。

1.3.4 PCR 扩增及琼脂糖凝胶电泳检测

以上 4 种方法提取的总 DNA, 通过 PCR 反应进行基因扩增。MC4R-loxp 小鼠的上游引物为 GACA TGAAAGAAAACAGACACC, 下游引物为 GAGTC TCGGGCAATGAACC (5'-3')。PCR 扩增反应体系总体积为 10 μ L。PCR 反应前体系组成: Mix 5 μ L, 上下游引物各 0.3 μ L, 无酶水补足 9.5 μ L。按样本数 N+1 配制 PCR 反应前体系, 并在漩涡振荡器上混匀, 微型离心机离心 1 min。取 9.5 μ L 反应前体系混合物, 加入 DNA 模板 0.5 μ L, 进行 PCR 扩增。PCR 反应程序如下: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 15 s, 65 °C 退火 30 s (每个循环降温 0.5 °C), 72 °C 延伸 40 s, 40 个循环; 72 °C 延伸 5 min, 12 °C 保存。扩增反应结束后, PCR 产物放置于 4 °C 冷藏。

取 7 μ L 扩增产物, 进行 1.2% 琼脂糖凝胶

(150 V, 35 min) 电泳, 在凝胶成像系统中观察电泳结果。MC4R-loxp 小鼠的基因型目的条带为 500 bp (突变型) 和 411 bp (野生型)。

1.4 统计学方法

检测结果用平均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。

2 结果

2.1 DNA 模板的质量与浓度

MC4R-loxp 小鼠尾分别按照 4 种方法处理所得上清液即为 DNA 模板。取 1 μ L 模板, 使用微量分光光度计检测模板的 DNA 浓度和纯度, 结果见表 1。表中可见 DNA 提取试剂盒法处理的 DNA 模板最纯净, 其次是碱煮简化法。而碱煮常规法和蛋白酶 K 裂解法处理的 DNA 模板吸光度 A260/A280 比值均在 1.30 左右, 表明这两种方法提取的 DNA 模板含杂质较多, 残留了部分蛋白质。此外, 在总 DNA 得率方面, 蛋白酶 K 裂解法最优, 最高可达到 2805 μ g/mL, 平均得率为 (1703.88 \pm 616.00) μ g/mL, 几乎是试剂盒法处理模板 (43.91 \pm 15.64) μ g/mL 的 39 倍; 其次为碱煮简化法和碱煮常规法。

2.2 琼脂糖凝胶电泳结果

MC4R-loxp 小鼠的鼠尾经 4 种方法处理后所得 DNA 模板在 PCR 扩增和凝胶电泳后结果见图 1。图中可见 4 种方法处理的 DNA 模板 PCR 扩增后均可得到清晰的 DNA 目的条带, 能够达到筛选转基因阳性鼠的实验目的。

2.3 提取方法耗时及费用比较

配制完所有试剂后, 按照 4 种方法提取 8 个样本 DNA 模板的时间依次为 1.65、1.98、13.5 和 12.5 h。在试剂消耗上, 碱煮简化法只需用 NaOH, 碱煮常规法除 NaOH 外, 还需消耗 EDTA 和 Tris-HCl; 蛋白酶 K 裂解法中需使用 Tris、Triton X-100、 β -ME 和蛋白酶 K 等。从实验成本上看费用从低到高依次是: 碱煮简化法、常规法、蛋白酶 K 裂解法和 DNA 提取试剂盒法。

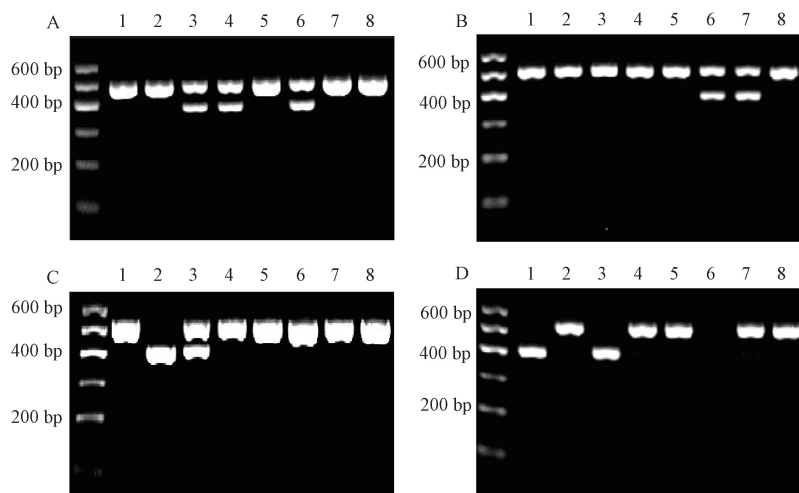
2.4 碱煮简化法 DNA 模板保存时间

碱煮简化法处理后所得的 DNA 模板采用常规 -20 °C 保存 10 d、20 d 和 30 d 后重复 PCR 扩增、凝胶电泳, 依然能够呈现清晰的目的条带 (见图 2), 说明该法所提取的 DNA 模板保存 30 d 后依然可用于基因型分析。

表 1 各组提取的 DNA 模板结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of total DNA isolated for each groups ($\bar{x} \pm s$)

分组 Groups	项目 Item	小鼠编号 Number of mice								平均值 Mean value
		1	2	3	4	5	6	7	8	
碱煮简化法 Alkaline simplified group	吸光度比值 OD ratio	1.67	1.59	1.73	1.70	1.63	1.65	1.66	1.76	1.67±0.05
	DNA 浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$) DNA concentration	468	527	463	468	281	414	421	389	428.88±73.29
碱煮常规法 Alkaline routine group	吸光度比值 OD ratio	1.27	1.37	1.38	1.28	1.31	1.28	1.33	1.30	1.31±0.04
	DNA 浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$) DNA concentration	451	306	500	444	427	308	273	516	403.13±94.17
蛋白酶 K 裂解法 Protease K cleavage group	吸光度比值 OD ratio	1.32	1.21	1.18	1.26	1.36	1.29	1.31	1.49	1.30±0.10
	DNA 浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$) DNA concentration	1256	2355	2044	1382	2805	1227	1195	1367	1703.88±616.00
DNA 提取试剂盒法 DNA extraction kit group	吸光度比值 OD ratio	1.79	1.85	1.95	1.78	1.9	1.96	2.07	2.11	1.93±0.12
	DNA 浓度/($\mu\text{g}/\text{mL}$) DNA concentration	51.00	44.40	60.40	64.90	37.90	18.40	27.90	46.40	43.91±15.64

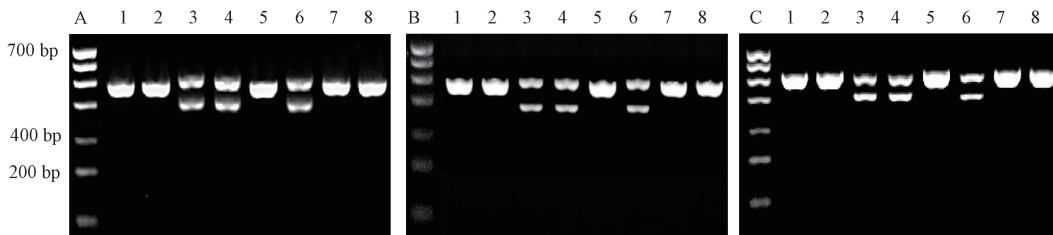


注: A: 碱煮简化组; B: 碱煮常规组; C: 蛋白酶 K 裂解组; D: DNA 提取试剂盒组; 1~8: 小鼠编号。

图 1 4 种不同提取方法所得 DNA 模板的琼脂糖凝胶电泳检测结果

Note. A, Alkali simplified group. B, Alkaline routine group. C, Protease K cleavage group. D, DNA extraction kit group. 1~8, Number of mice.

Figure 1 Agarose electrophoresis results of the DNA model extracted by 4 different methods



注: A: 10 d; B: 20 d; C: 30 d; 1~8: 小鼠编号。

图 2 碱煮简化法所得 DNA 模板不同保存时间的琼脂糖凝胶电泳检测结果

Note. A, 10 d. B, 20 d. C, 30 d. 1~8, Number of mice.

Figure 2 Agarose electrophoresis results of the DNA model extracted by alkali simplified method and stored for different preservation times

3 讨论

人类探索生命特征往往需要大量的基因小鼠,如刘畅等^[16]曾经使用了 69 只 PV-cre 小鼠才完成了小白蛋白阳性抑制性神经元作用机制研究,LIU 等^[17]用了 80 余只 SARM1^{GFAP}-CKO 双基因小鼠才完成 SARM1 通过 NF- κ B 信号促进神经炎症并抑制脊髓损伤后的神经再生研究。因此在基因小鼠的繁育过程中常常必须进行大量模式小鼠基因型鉴定工作。故建立稳定、可靠、快捷、经济的鉴定方法可有效提高模式小鼠基因型鉴定工作效率、降低实验成本。

从表 1 中可以看出,DNA 提取试剂盒法处理所得的 DNA 模板纯度最好,且凝胶电泳后无杂带干扰,鉴定结果可靠。这主要是因为 DNA 提取试剂盒法中吸附柱可以吸附部分杂质,且漂洗液中乙醇也可除去部分杂质。但该法操作复杂、耗时长,且漂洗后模板中 DNA 浓度非常低。故有时条带较弱,甚至无条带出现。蛋白酶 K 裂解法处理所得的模板中 DNA 浓度最高,凝胶电泳后所有的样本基本都有目的条带出现,可有效鉴定出模式小鼠的基因型,但该法不仅操作复杂、耗时长,而且使用的无色挥发性液体 β -巯基乙醇具有较强烈的刺激性气味,需要在通风橱中进行操作,噪声较大。碱煮常规法中的 EDTA 是一种重要的螯合剂,可在一定程度上除去部分杂质,其 DNA 模板凝胶电泳结果与碱煮简化法基本相同。

综合比较 4 种基因鉴定方法的效果、效率及成本后发现碱煮简化法有以下优点:(1)操作步骤精简,污染少;碱煮简化法只需消化、离心,2 步即可完成 DNA 提取,操作非常简便快捷,无毒无味,减少了样本间的交叉污染。(2)实验周期短,效率高:碱煮简化法处理时间不足 2 h,当天即可快速筛选出基因型结果,便于模式小鼠后续研究工作的开展。(3)成本低廉,效果好:碱煮简化法只使用了最便宜的 NaOH,样本处理成本几近于 0,且在凝胶中可电泳出清晰的目的条带,能够满足模式小鼠基因型鉴定工作。

当然碱煮简化法也有缺陷。在模式小鼠的鉴定工作中发现当目的条带在 800 bp 以上时,碱煮简化法提取的模板无 800 bp 以上的条带,如 Nix-ko 小鼠,其目的条带为 870 bp(突变型)和

368 bp(野生型),碱煮简化法提取的 DNA 模板均只有 368 bp 的条带。故碱煮简化法多用于目的条带在 500 bp 以下的小鼠基因型鉴定工作。在美国 JAX 公司的模式小鼠供货单上适用于心血管研究、可用 PCR 程序鉴定出基因型的前 50 种中共有 42 种目的条带在 400 bp 以下,故绝大多数模式小鼠的基因鉴定均可使用碱煮简化法提取 DNA。

综上所述,碱煮简化法所得 DNA 模板在 -20 °C 冷冻保存 1 个月后仍可用于基因鉴定,且费用低廉,耗时较少,电泳条带较清晰,是目前最简便、最快捷、最经济的 DNA 提取方法。

参考文献:

- [1] 李晓娟,孙岩峰,修叶,等. PD-1 人源化小鼠构建繁殖与基因型鉴定 [J]. 实验动物科学, 2023, 40(4): 34-38.
LI X J, SUN Y F, XIU Y, et al. Breeding and genotype identification of PD-1 humanized mice [J]. Lab Anim Sci, 2023, 40(4): 34-38.
- [2] 王存连,李龙飞,张瑞华,等. TRPM2 基因敲除小鼠的建立与鉴定 [J]. 生物学杂志, 2023, 40(4): 114-118.
WANG C L, LI L F, ZHANG R H, et al. Establishment and identification of TRPM2 gene knockout mice [J]. J Biol, 2023, 40(4): 114-118.
- [3] 李梦茹,张文,段辰星,等. 鼠源 Eif4A1 基因克隆及其原核/真核表达构建与鉴定 [J]. 南方农业学报, 2023, 54(10): 3073-3082.
LI M R, ZHANG W, DUAN C X, et al. Cloning of mouse eIF4A1 gene and its prokaryotic/eukaryotic expression identification [J]. J South Agri, 2023, 54(10): 3073-3082.
- [4] 王辞岚,李劲频,傅金凤,等. MiR-125a-5p 基因敲除 C57BL/6J 小鼠的构建 [J]. 广西医科大学学报, 2023, 40(5): 838-842.
WANG C L, LI J P, FU J F, et al. Construction of miR-125a-5p knockout C57BL/6J mice [J]. J Guangxi Med Univ, 2023, 40(5): 838-842.
- [5] 薛康宁,张名媛,杨丽超,等. VASN 基因敲除小鼠的基因型的鉴定方法研究 [A]. 第十六届中国实验动物科学年会论文集 [C]; 2023.
XUE K N, ZHANG M Y, YANG L C, et al. Study on the identification method of genotype of VASN gene knockout mice [A]. Proceedings of the 16th China Annual Conference on Experimental Animal Science [C]; 2023.
- [6] 王闯蓉,张峰,鲁利群. Nr2 敲除小鼠模型的构建与基因型鉴定 [J]. 基础医学与临床, 2023, 43(3): 415

- 418.
- WANG M R, ZHANG F, LU L Q. Construction and genotype identification of Nrf2 knockout mouse model [J]. *Basic Clin Med*, 2023, 43(3): 415-418.
- [7] 李喜, 曾艳, 陈昌蓉, 等. 胸腺上皮细胞特异性敲除 GSK-3 β 基因小鼠模型的鉴定及免疫学特征观察 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(3): 279-286.
- LI X, ZENG Y, CHEN C R, et al. Characterization and immunological characteristics of GSK-3 β gene knockout thymic epithelial cells in mice [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(3): 279-286.
- [8] 赵晓杰, 闫冰, 刘丹, 等. 载脂蛋白 E 背景 E1A 激活基因阻遏子模式小鼠建立及鉴定 [J]. *临床军医杂志*, 2023, 51(05): 510-513.
- ZHAO X J, YAN B, LIU D, et al. Establishment and identification of apolipoprotein E background cellular repressor of E1A-stimulated genes transgenic mice [J]. *Clin J Med Office*, 2023, 51(5): 510 - 513.
- [9] 扈腊英, 黄亚莉, 刘露, 等. 胰岛 β 细胞 Metrn1 基因敲除小鼠的鉴定及初步表型分析 [J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(11): 2034-2043.
- HU L Y, HUANG Y L, LIU L, et al. Identification and preliminary phenotypic analysis of mice with Metrn1 knockout in islet β cells [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2023, 39(11): 2034-2043.
- [10] 王语涵, 许雅萍, 李南, 等. 肝星状细胞特异性 Grk2 基因敲除小鼠模型的制备及鉴定 [J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(1): 189-194.
- WANG Y H, XU Y P, LI N, et al. Establishment and genotype identification of hepatic stellate cell-specific Grk2 gene knockout mouse model [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2024, 40(1): 189-194.
- [11] 余钢, 陈锡坚, 郭锦伟, 等. 通过骨髓移植建立骨髓源性细胞特异性基因修饰小鼠模型 [J]. *汕头大学医学院学报*, 2023, 36(4): 193-196, 204.
- YU G, CHEN X J, GUO J W, et al. Establishment of a bone marrow-derived cell-specific gene-modified mouse model by bone marrow transplantation [J]. *J Shantou Univ Med Coll*, 2023, 36(4): 193-196, 204.
- [12] 陈雪婷, 郎雪楠, 李兆阳, 等. 大/小鼠组织 DNA 两种提取方法的比较 [J]. *实验动物与比较医学*, 2015, 35(4): 311-315.
- CHEN X T, LANG X N, LI Z Y, et al. Comparison of two methods for extracting DNA from rat/mouse tissues [J]. *Lab Anim Comp Med*, 2015, 35(4): 311-315.
- [13] 刘魁苏, 左琴, 周舒雅, 等. 模式小鼠总 DNA 三种提取方法比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(7): 45-50.
- LIU S S, ZUO Q, ZHOU S Y, et al. Comparison of three methods for total DNA extraction from mouse models [J]. *Chin J Comp Med*, 2014, 24(7): 45-50.
- [14] 卢一凡, 田毅, 邓继先. 转基因动物鉴定技术的研究进展 [J]. *生物工程进展*, 2000, 20(3): 60-61, 54.
- LU Y F, TIAN C, DENG J X. Progress of identifying transgenic animal in technology [J]. *Prog Biotechnol*, 2000, 20(3): 60-61, 54.
- [15] KALENDAR R, BORONNIKOVA S, SEPPÄNEN M. Isolation and purification of DNA from complicated biological samples [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2222: 57-67.
- [16] 刘畅, 王若兰, 胡俊, 等. 激活 PV 阳性抑制性神经元对脑缺血引起记忆障碍的改善作用 [J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(10): 984-990.
- LIU C, WANG R L, HU J, et al. Improvement of activation of parvalbumin positive inhibitory neurons to memory impairment caused by frontal cortex ischemia [J]. *J Army Med Univ*, 2022, 44(10): 984-990.
- [17] LIU H, ZHANG J, XU X, et al. SARM1 promotes neuroinflammation and inhibits neural regeneration after spinal cord injury through NF- κ B signaling [J]. *Theranostics*, 2021, 11(9): 4187-4206.

[收稿日期] 2024-06-13