

# 近交系小鼠过氧化氢酶-2 遗传生化标记位点的研究

王 洪,刘双环,王淑菁,岳秉飞

(中国药品生物制品检定院,北京 100050)

**【摘要】** 目的 为了进一步完善近交系小鼠遗传生化标记检测方法,对近交系小鼠过氧化氢酶-2 生化标记位点进行研究。方法 将 CBA/Ca 与 BALB/c 交配得到杂交 F1 代动物,同时将 CBA/Ca 与 C57BL/6 交配得到杂交 F1 代动物,然后通过 F1 代动物之间的交配,以及 F1 代动物与母代的回交,得到 F2 代动物,对 F2 代动物进行过氧化氢酶-2 生化标记检测。结果 在杂交 F1 代不表现的过氧化氢酶-2 的 b 型基因,在 F2 代出现。结论 近交系小鼠过氧化氢酶-2 遗传生化标记位点的等位基因 a 是完全显性的。

**【关键词】** 小鼠;近交系;过氧化氢酶-2

**【中图分类号】** Q38; R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)06-0012-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.06.003

## The Studies on Catalase-2 of Biochemical Markers of Inbred Mice

WANG Hong, LIU Shuang-huan, WANG Shu-jing, YUE Bing-fei

(National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**【Abstract】 Objective** To consummate genetic biochemical marker of inbred mice, we study Catalase-2 of biochemical markers of inbred mice. **Methods** Filial generation 1 CCBF1 were obtained by intercrossing of CBA/Ca and BALB/c; and filial generation 1 B6CBF1 were also obtained by intercrossing of CBA/Ca and C57BL/6. Filial generation 2 were obtained by intercrossing between filial generation 1 and by backcrossing between filial generation 1 and their parents. Then filial generation 2 were monitored by biochemical markers. **Result** Ce-2<sup>b</sup> is detected among filial generation 2 mice, while not among filial generation 1 mice. **Conclusion** Ce-2<sup>a</sup> is fully dominant.

**【Key words】** Mice; Inbred strain; Catalase-2

遗传生化标记检测法是一种简便、迅速、准确地保证近交系小鼠遗传质量的方法。选择一些在品系间具有多态性的同工酶和异构蛋白作为生化标记,将动物脏器组织匀浆上清液、血液中的酶、蛋白质等进行电泳后,以特异的生物化学方法进行染色来识别待测的性状。国家标准 GB/T 14927.1—2008 中显示小鼠遗传生化标记检测的 14 个位点里有 5 个生化位点存在杂和形式,并且其相应的杂合

图谱在最新版本的国家标准中可以找到。杂合图谱为近交系小鼠的遗传质量控制提供了判断依据。过氧化氢酶-2 是近交系小鼠生物化学标记基因检测法的 14 个生化位点之一,在现行的国家标准里并没有过氧化氢酶-2 的杂合型图谱的描述。过氧化氢酶-2 是取小鼠的肾匀浆,进行醋酸纤维素膜电泳,根据电泳条带的快慢来判断该位点的基因型。该位点的染色方法简便迅速,但是条带很宽,对于杂合型

[基金项目] 中国药品生物制品检定院中青年发展研究基金(2009C8 号课题)。

[作者简介] 王洪(1977 -),女,助理研究员。研究方向:实验动物遗传质量检测。E-mail: wanghong2046@hotmail.com。

的判断很难,也未见相关报道。基于此,本文对小鼠遗传生化标记位点过氧化氢酶-2 的杂合型图谱进行探讨<sup>[1,2]</sup>。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验动物

8 周龄近交系小鼠,CBA/Ca,雄 4 只,SPF 级,来自上海斯莱克实验动物有限责任公司[SCXK(沪)2007-0005];

8 周龄近交系小鼠,BALB/c,雌 4 只,SPF 级,来自国家啮齿类实验动物种子中心[SCXK(京)2005-0004];

8 周龄近交系小鼠,C57BL/6,雌 4 只,SPF 级,来自国家啮齿类实验动物种子中心[SCXK(京)2005-0004]。

#### 1.2 实验材料、仪器及试剂

Tris 和柠檬酸,均为分析纯,北京化学试剂公司提供。

Ce-2 标准样品试剂盒及染色用试剂盒,中国药品生物制品检定所提供。

醋酸纤维素膜(涤纶基),浙江台州路桥四甲生化塑料厂提供。

电泳槽,北京市六一仪器厂产品。

电泳仪,BIO-RAD Model 3000Xi,美国。

毛细管离心机,IEC MB CENTRIFUGE,美国。

低温高速离心机,HITACHI 20PR-52D,日本。

酸度计,sartorius PB-10,德国。

#### 1.3 实验方法

F1 代的培育:

将 1 只雄性 CBA/Ca 与 2 只雌性 BALB/c 同居 21 d 之后,7 只杂交 F1 代动物 CCBF1 出生。

将 1 只雄性 CBA/Ca 与 2 只雌性 C57BL/6 同居 21 d 之后,5 只杂交 F1 代动物 B6CBF1 出生。

F2 代的培育:

A 组 将 1 只雄性 CBA 与 2 只雌性 B6CBF1 同居 20 d 之后,5 只 F2 代动物出生。

B 组 将 1 只雄性 CBA 与 2 只雌性 CCBF1 同居 26 d 之后,7 只 F2 代动物出生。

C 组 将 1 只雄性 B6CBF1 与 2 只雌性 C57BL/6 同居 42 d 之后,6 只 F2 代动物出生。

D 组 将 1 只雄性 CCBF1 与 2 只雌性 CCBF1 同居 22 d 之后,9 只 F2 代动物出生。

E 组 将 1 只雄性 CCBF1 与 2 只雌性 BALB/c 同居 30 d 之后,6 只 F2 代动物出生。

F 组 将 1 只雄性 B6CBF1 与 1 只雌性 B6CBF1 同居 30 d 之后,7 只 F2 代动物出生。

取六组实验的父母本和所有 F2 代,共 52 只动物,按照 GB/T 14927.1—2008 对 52 只小鼠进行 Ce-2 遗传生化标记检测<sup>[3,4]</sup>。

### 2 结果

六组 52 只 F2 代小鼠过氧化氢酶-2 生化标记位点的基因型和表现型,见表 1 和图 1、2、3、4、5 和 6。

表 1 F2 代小鼠 过氧化氢酶-2 生化标记位点的基因型  
Tab. 1 The genotypes of F2 mice for Ce-2 biochemical marker

	父本 Father		母本 Mother		1	2	3	4	5	6	7	8	9
	基因型 Genotype	表现型 Phenotype	基因型 Genotype	表现型 Phenotype									
A	CBA	b	B6CBF1	ab	a	b	a	a	a	—	—	—	—
B	CBA	b	CCBF1	ab	a	b	b	a	a	a	b	—	—
C	B6CBF1	ab	C57BL/6	a	a	a	a	a	a	a	—	—	—
D	CCBF1	ab	CCBF1	ab	a	a	a	a	a	a	a	a	a
E	CCBF1	ab	BALB/c	a	a	a	a	a	a	a	—	—	—
F	B6CBF1	ab	B6CBF1	ab	a	a	a	a	a	a	b	—	—

### 3 讨论

#### 3.1 父本 CBA 表现型为 a 型,母本 B6CBF1 表现

型为 a 型,如果双方基因型均为纯和的话,F2 代动物不应该出现 b 型。已知父本 CBA 为纯合 a 型,母本 B6CBF1 为已知纯合的 CBA(b 型)和已知纯合的

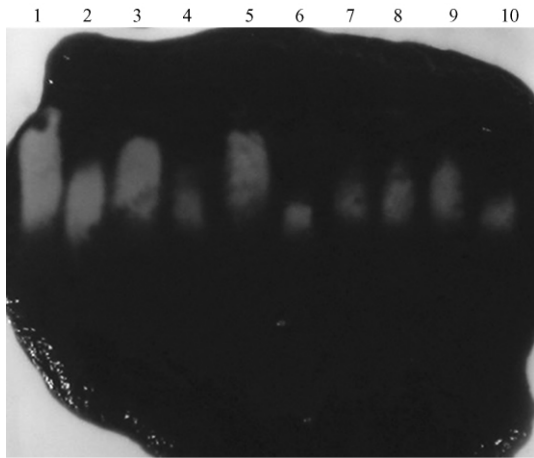


图 1 A 组动物过氧化氢酶-2 结果

Fig. 1 The result of Ce-2 of A mice

- 1. CBA/Ca 2. F2-A1 3. F2-A2 4. F2-A3 5. CBA/Ca 6. B6CBF1 7. F2-A4 8. F2-A5 9. F2-A5 10. B6CBF1

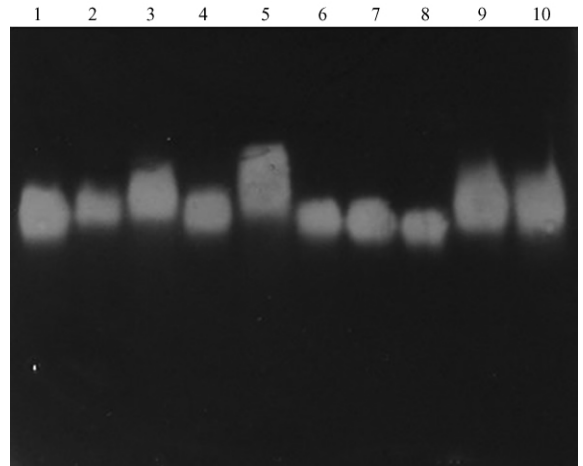


图 2 B 组动物过氧化氢酶-2 结果

Fig. 2 The result of Ce-2 of B mice

- 1. F2-B1 2. F2-B2 3. F2-B3 4. F2-B4 5. CBA/Ca 6. CCBF1 7. F2-B5 8. F2-B6 9. F2-B7 10. F2-B7

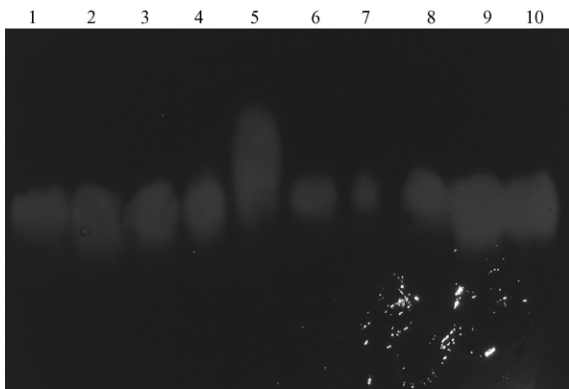


图 3 C 组动物过氧化氢酶-2 结果

Fig. 3 The result of Ce-2 of C mice

- 1. C57BL/6 2. B6CBF1 3. F2-C1 4. F2-C2 5. CBA/Ca 6. F2-C4 7. F2-C5 8. F2-C6 9. F2-D9 10. F2-C3

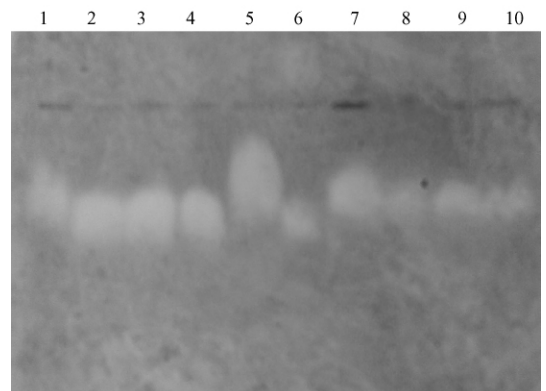


图 4 D 组动物过氧化氢酶-2 结果

Fig. 4 The result of Ce-2 of D mice

- 1. CCBF1 雌 2. CCBF1 雄 3. F2-D1 4. F2-D2 5. CBA/Ca 6. F2-D4 7. F2-D5 8. F2-D6 9. F2-D7 10. F2-D8

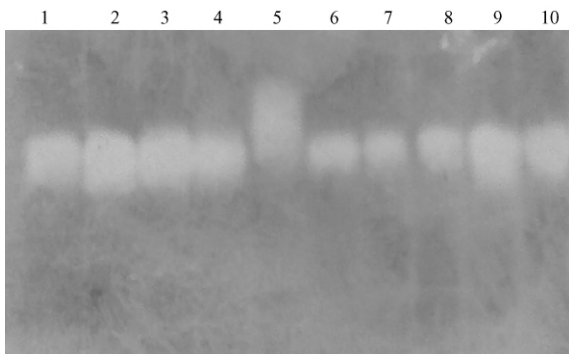


图 5 E 组动物过氧化氢酶-2 结果

Fig. 5 The result of Ce-2 of E mice

- 1. BALB/c 2. CCBF1 3. F2-E1 4. F2-E2 5. CBA/Ca 6. F2-E4 7. F2-E5 8. F2-E6 9. F2-D3 10. F2-E3

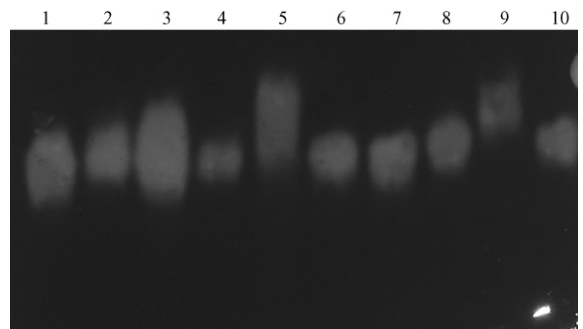


图 6 F 组动物过氧化氢酶-2 结果

Fig. 6 The result of Ce-2 of F mice

- 1. B6CBF1 雄 2. B6CBF1 雌 3. F2-F1 4. F2-F2 5. CBA/Ca 6. F2-F4 7. F2-F5 8. F2-F6 9. F2-F7 10. F2-F3

C57BL/6(a 型) 交配得到的杂交 F1 代。虽然该 F1 代表现为 a 型, 但是其理论基因型应为 ab 型, F2 代中纯和的 b 型动物出现的几率为 50%, 这就是 F2 代 5 只动物中有 1 只出现 b 型的原因, 也说明 a 型和 b 型基因不是共显性的, a 型为完全显性。

**3.2** 父本 CBA 表现型为 a 型, 母本 CCBF1 表现型为 a 型, 如果双方均为纯合型的话, F2 代动物不能够出现 b 型。已知父本 CBA 为纯合 a 型, 母本 CCBF1 为已知纯合的 CBA (b 型) 和已知纯合的 BALB/c(a 型) 交配得到的杂交 F1 代。虽然该 F1 代表现为 a 型, 其理论基因型应为 ab 型, F2 代中纯和的 b 型动物出现的几率为 50%, 这就是 F2 代 7 只动物中有 3 只出现 b 型的原因, 也说明 a 型和 b 型基因不是共显性的, a 型为完全显性。

**3.3** 父本 B6CBF1 为 a 型, 母本 C57BL/6 为 a 型。父本 B6CBF1 为已知纯合的 CBA (b 型) 和已知纯合的 C57BL/6(a 型) 交配得到的杂交 F1 代。虽然该 F1 代表现为 a 型, 其理论基因型应为 ab 型, 可是母本 C57BL/6 为纯合 a 型, 即使 F2 代出现 ab 杂合基因型, 因为 a 型基因的完全显性, F2 代中也不应该出现 b 型表现型。这与实际检测结果一致, F2 代的 6 只动物均表现为 a 型。

**3.4** 父本和母本都是 CCBF1, 为 a 型, CCBF1 为已知纯合的 CBA (b 型) 和已知纯合的 BALB/c (a 型) 交配得到的杂交 F1 代。虽然该 F1 代表现为 a 型, 其理论基因型应为 ab 型。F2 代动物有可能出现纯合 b 型的几率为 25%。在实际检测中 9 只 F2 代动物均表现为 a 型。即使有杂合 ab 型动物存在, 由于 a 型基因的完全显性, 表现型也只能是 a 型。

**3.5** 父本 CCBF1 为 a 型, 母本 BALB/c 为 a 型, 父本 CCBF1 为已知纯合的 CBA (b 型) 和已知纯合的 BALB/c (a 型) 交配得到的杂交 F1 代。虽然该 F1 代表现为 a 型, 其理论基因型应为 ab 型, 可是母本 BALB/c 为纯合 a 型, 即使 F2 代出现杂合基因型, 因为 a 型基因的完全显性, F2 代中也不应该出现 b 型表现型。这与实际检测结果一致, F2 代的 6 只动物均表现为 a 型。

**3.6** 父本和母本都是 B6CBF1, 为 a 型, B6CBF1 为已知纯合的 CBA (b 型) 和已知纯合的 C57BL/6 (a 型) 交配得到的杂交 F1 代。虽然该 F1 代表现为 a 型, 其理论基因型应为 ab 型。F2 代动物有可能出现纯和的 b 型, 几率为 25%。在实际检测中, 7 只 F2 代动物中有 1 只表现为 b 型。

**3.7** 六组实验的结果充分说明, 过氧化氢酶-2 的等位基因不是共显性的, 其基因型 a 为完全显性。国家标准 GB/T 14927.1—2008 规定小鼠遗传生化标记位点是 14 个, 除过氧化氢酶-2 以外, 其它 13 个位点的等位基因都是共显性的。严格地说, 过氧化氢酶-2 作为遗传生化标记位点是不合适的。该位点的表现型只能看到纯和的 b 型和 a 型, 而无法见到杂合型, 因为完全显性的 a 型将 b 型掩盖了。因此在检测小鼠的过程中, 可能会出现将杂合型误判为纯合 a 型的可能<sup>[5-7]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 孙靖. 实验动物学基础 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2005.
- [2] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 《实验动物近交系小鼠、大鼠生化标记检测法》(GB/T 14927.1—2008) [E]. 2008.
- [3] Margaret C. Green. Genetic Variants and Strains of the Laboratory Mouse [M]. New York: International Committee on Standardized Genetic Nomenclature for mice, 1981.
- [4] Tatsuji N, Kozaburo E, Takeshi T. ICLAS Manual for Genetic Monitoring of Inbred Mice [M]. Tokyo: University of Tokyo Press, 1984.
- [5] Milan F, Jan S, Jirina H. Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus [J]. BMC Med Genet. 2008 9: 30.
- [6] Xia Y, Won S, Du X. Bulk Segregation Mapping of Mutations in Closely Related Strains of Mice [J]. Genetics. 2010.
- [7] Ahn J, Nowell S, McCann SE. Associations between catalase phenotype and genotype: modification by epidemiologic factors [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006, 15 (6): 1217-22.

(修回日期)2010-12-30