



JAX[®] 小鼠应用指南

JAX[®] 小鼠接收操作说明

小鼠的安全与福利直接影响研究的质量和结果，当您接收到 JAX[®] 小鼠时，

1. 运输笼盒的接收、搬运和放置：

- 当动物到达时，请检查笼盒外部，如有孔洞或破裂等异常，不要将笼盒转入屏障设施。请立即告知杰克森实验室技术信息部门 (电话 400-001-2626 或邮件 micetech@jax.org.cn)，按照建议进行处理。
- 接收小鼠后，请将运输笼盒放在通风良好，温度湿度适宜，无高分贝噪音和震动的房间。不要放在空气流通不畅的房间或阳光直射的地方，不要存放在室外。
- 搬运时，请保持运输笼盒在水平位置。不要倒置，倾斜或摇晃运输笼盒。
- 运输笼盒的过滤网能够有效防止外来病原体的侵入，同时还能保持盒内的空气流通。阻挡、阻塞过滤网会限制空气流通并危及小鼠健康。故放置笼盒时，请不要阻挡过滤网。
- 建议过滤网与其他物体之间至少保持四厘米的距离。
- 不要将纸或其他物体置于运输笼盒上。
- 如无异常问题，小鼠在到达后应立即转移进入屏障设施。

2. 运输笼盒转移进入屏障设施：

- 在设施外将运输笼盒外部打包带取下。
- 紫外线可能会导致小鼠皮肤疾病甚至 DNA 损伤，故我们建议尽量不要用紫外灯照射。
- 在将运输笼盒及小鼠传入屏障设施前，我们建议用消毒剂彻底擦拭至少 3 次。
- 用消毒剂擦拭每个运输笼盒的外部 and 缝隙处，擦拭时尽量保持运输笼盒在水平位置，维持适当的消毒剂接触时间。
- 将外部清洁消毒后的笼盒传入设施内部。



我们建议如下操作：

3. 打开运输笼盒：

- 打开运输笼盒须在生物安全柜或超净工作台内进行。
- 提前对生物安全柜或超净工作台进行清洁消毒，并准备好所需的物品和其他干净笼盒。
- 用消毒剂再次擦拭运输笼盒外部，然后在生物安全柜或超净工作台中打开运输笼盒顶盖。
- 将小鼠单只依次转入新准备的干净饲养笼盒中(转移时注意轻拿轻放，切勿将小鼠扔入笼盒中)。
- 当完成每一笼小鼠或笼盒一侧小鼠转运后，可将原运输盒小鼠品系标签转移到新笼盒上(需要时)。
- 为避免小鼠的争斗打架，请勿将不同运输笼盒或不同隔间内的小鼠转移到同一个新饲养笼盒中。

4. 观察小鼠情况：

- 在小鼠转移进入饲养笼盒的几天之内，可以考虑为小鼠提供筑窝材料和遮蔽物来帮助它们缓解压力。
- 在到达后两天内要密切关注小鼠的健康情况，如果小鼠打架，请将小鼠分笼并联系兽医寻求治疗。在小鼠到达设施的前几天，有可能因不适应新的饮水系统而出现脱水。如果小鼠脱水，可以提供水凝胶(在笼底)以有效防止小鼠脱水。
- 如果您的鼠标有任何健康问题(如被毛蓬乱、弯腰驼背、呼吸困难等)，请第一时间联系您的兽医。
- 如果小鼠在到达设施24小时之内出现死亡以及明显的状态不佳等外观问题，请于48小时内向杰克森实验室技术支持反馈。如有任何技术问题，请咨询杰克森实验室技术信息部门(电话 400-001-2626 或邮件 micetech@jax.org.cn)。



目录

1. 杰克森实验室 (JAX) 与实验用小鼠	1
1.1 近交系小鼠历史起源	1
1.2 杰克森实验室近交系小鼠	1
2. 小鼠基础知识	2
2.1 小鼠生存环境	2
2.2 小鼠繁育基础数据	2
3. 小鼠遗传学	3
3.1 小鼠遗传基本信息	3
3.2 基因的定义	3
3.3 基因型的定义	3
4. 小鼠品系命名	4
5. 小鼠资源数据库	6
5.1 小鼠数据资源库	6
5.2 JAX® 小鼠资源库详情	6
6. 小鼠品系选择	8
6.1 选择小鼠品系需要考虑的因素	8
6.2 小鼠品系搜索方法	8
7. 对照组小鼠的选择策略	11
7.1 近交系小鼠的对照组设置	11
7.2 同源近交系突变小鼠的对照设置	11
7.3 混合遗传背景突变小鼠的对照设置	11
8. 小鼠基因型鉴定	12
8.1 基因组的提取方法	12
8.2 基因型鉴定方法查找	14
8.3 常见基因型鉴定方法介绍	15
8.4 基因型鉴定常见的问题和注意事项	15
9. Cre-lox 基础信息	16
9.1 Cre-lox 基本原理	16
9.2 Cre-lox 数据资源库	17
9.3 Cre-lox 小鼠配繁和鉴定策略	18
10. 小鼠繁育	19
10.1 引进繁育对时需考虑的问题	19
10.2 如何根据研究需求制定繁育策略	19
10.3 繁育相关建议	21
11. 小鼠遗传质量	22
11.1 遗传漂变	22
11.2 JAX 遗传质量控制策略	23
12. 小鼠健康管理	24
12.1 JAX® 小鼠健康监测策略	24
12.2 环境微生物监测	24
12.3 小鼠菌群稳定性	25
13. 小鼠种群管理要点	27

1. 杰克森实验室 (JAX) 与实验用小鼠 >>

1.1 近交系小鼠历史起源

在生物医学研究中，小鼠为医学进步做出了巨大贡献。人们借助小鼠模型研发更有效的治疗方法已有超过百年的历史。

20 世纪初，研究人员开始在其他物种中研究孟德尔遗传定律。由于小鼠当时已被驯化，容易获得，繁殖和维护，很快便成为了最受关注的研究对象。美国杰克森实验室 (The Jackson Laboratory, JAX) 创始人 Clarence Cook Little (C.C.Little) 是对 “Fancy mouse” 花鼠开展早期研究的研究人员之一。C.C.Little 在哈佛大学读书时，其研究工作围绕在小鼠毛色孟德尔遗传定律及癌症相关领域。

19 世纪后期，早期的研究发现肿瘤可以移植到小鼠并且存活下来，但是当时的肿瘤移植成功率一直都不稳定。C.C.Little 认为，使用遗传一致性尽可能高的动物来开展研究，有可能会消除这种不稳定性。而通过不断的近交繁育来获得遗传上确定的性状，是当时实现遗传一致性仅有的策略。

尽管当时也有其他人，如 Castle，意识到近交系小鼠的优势，但他也担心这样的小鼠品系是否真的可以建立，因为近交繁育退化有可能会严重导致繁育能力严重障碍。而以 Little 和 Leonell Strong 为代表的一些年轻科学家则笃信，近交系小鼠对于科学研究的潜在价值是值得为之尝试并付出巨大努力的 — 事实上，他们也正是这么去做的。

1909 年，在哈佛大学刚成立的 Bussey Institute，Little 开始为他所研究的毛色遗传机制建立首个近交品系。最终，他成功建立了第一个近交品系 DBA。直到 1918 年，在 Cold Spring Harbor Laboratory，Little 和 Strong 共同参与建立了其他几个最常见的，至今都在使用的近交品系。其中一个就是 C57BL/6，即 JAX® 小鼠 C57BL/6J (000664) 的祖代品系。而 C57BL/6J 也是人类基因组计划完成后的第一个完成测序的近交系小鼠。

1.2 杰克森实验室近交系小鼠

C.C.Little 在后续的研究工作中继续用小鼠开展肿瘤遗传机理方面的研究，他曾先后担任缅因大学和密歇根大学的校长。1929 年，Little 离任密歇根大学校长，全职回到研究工作当中，并在慈善家的支持下创建了 The Jackson Laboratory (JAX)。在 JAX，Little 的目标是继续发展建立近交系小鼠，并用这些近交系小鼠研究癌症和人类其他遗传疾病。和 Leonell Strong 一起，JAX 持续建立了许多近交系小鼠，如 A，C3H 和 CBA 等。随着近交系小鼠价值被逐渐认可，其他研究机构对于小鼠的需求开始超出 JAX 的供应量。

1929 年的股市崩盘使研究经费锐减，而 Little 仍决定继续开展他们的研究。为了满足近交系小鼠饲养的花费，在 30 年代初期，Little 正式启动了向其他研究人员销售小鼠的项目。这一举动也开启了 JAX 到今天仍坚定不移的使命：致力于人类疾病探究、寻找精准的基因解决方案，赋能全球生物医药研究，为改善人类健康这一共同诉求做出贡献。

2. 小鼠基础知识 >>

2.1 小鼠生存环境

小鼠单位体重下相对体表面积大，对于环境的温度湿度变化十分敏感，因此维持稳定、合适的环境对小鼠的健康尤为重要。为保障实验小鼠的健康品质，JAX 拥有一套详尽规范的小鼠饲养环境标准，并处于实时监测中。

下表简单介绍小鼠基础数据的一般参考值以及 JAX® 小鼠的饲养环境。

成年小鼠基础数据		小鼠生存环境	
			JAX
体重	雄性 20 - 40 g	温度	18.9 - 21.1 °C
	雌性 18 - 35 g	湿度	45 % ± 15 %
寿命	一般 1 - 3 years	通风	每小时 15 - 18 倍笼盒体积
摄水量	6.7 mL / 8 周龄 / day	光照	14:10
摄食量	5.0 g / 8 周龄 / day	声音	< 65 dBA
体温	37 - 37.2 °C	垫料	刨花
心率	310 - 840 beats / min	饮水	1.5 mL / 10 g BW / day
血压	收缩压 133 - 160 mm Hg	饮食	1.5 g / 10 g BW / day
	舒张压 102 - 110 mm Hg		
血浆	3.15 mL / 100 g BW		
全血	5.85 mL / 100 g BW		
呼吸频率	163 / min		
潮气量	0.18 (0.09-0.38) mL		

* 上述信息是一般小鼠的基础数据，不同品系小鼠会有差异，详情可查询 JAX 网页，相关网页信息可查看本章 2.4 小节。

** 有的品系可能对环境有特殊要求，引进前可以咨询杰克森实验室技术支持。

2.2 小鼠繁育基础数据

下表列出了小鼠繁育的基础数据，以供参考。

	一般值	备注
性成熟年龄	4 - 8 周	雄性 6 周，雌性 4 - 6 周
妊娠期	18 - 21 天	母鼠年龄变大，可能妊娠期会延长
每胎产仔数	平均 6 - 8 仔	根据品系不同，会在 2 - 12+ 仔之间
离乳年龄	21 - 28 天	不要在小鼠 17 天前离乳
产仔窝数	2 - 8 胎	通常会多于 4 胎，也有品系少于 2 胎

需要注意的是，小鼠的繁育数据受到遗传和环境的双重影响，不同品系或者同一品系在不同的设施中，繁育数据都有可能出现差异。因此，在**引进种群前**，建议向小鼠供应商了解该品系的繁育情况，以制定更有针对性的繁育策略，做好实验安排；在**种群管理时**，则建议详细、持续监测小鼠的繁育数据，以更好地了解种群特性，规避风险。常见的记录参数包括：每窝产仔数、母鼠每窝产仔时间间隔、产仔基因型、性别比例等。

3. 小鼠遗传学 >>

3.1 小鼠遗传基本信息

小鼠是生命科学研究中至关重要的模式动物，一个原因是其与人类的遗传相似度高达 95 - 98 %。下表列出了小鼠与人的基本遗传信息。

实验室小鼠与人的基本遗传信息对比

特征	小鼠	人
染色体数	单倍体数 = 20 (19 条常染色体; 1 条性染色体) 二倍体数 = 40	单倍体数 = 23 (22 条常染色体; 1 条性染色体) 二倍体数 = 46
基因数	已确定 23,000 个; 潜在 25,000 个	20,000-25,000 (人类基因组计划, 2008)
厘摩 (cM)*	1,500 (每条染色体平均: 75 cM)	3,000 (每条染色体平均: 130 cM)
碱基对数目	2,700,000,000	3,200,000,000

* 厘摩 (cM) 是指基于重组频率的遗传距离，1 厘摩的定义为两个位点间平均 100 次减数分裂发生 1 次遗传重组。

3.2 基因的定义

基因是产生一条多肽链或功能 RNA 所需的全部核苷酸序列。一对同源染色体相同位置上控制同一性状不同形态的基因称为等位基因 (Allele)。等位基因通过突变产生。一个基因可以有多个等位基因，它们的差异可能只有一个碱基，也可能涉及一长段序列。

3.3 基因型的定义

基因型是用来区分特定位点上等位基因之间关系的术语，通常有以下三种基因型：

杂合子 (Heterozygous): 一个特定位点上具有两个不同的等位基因。

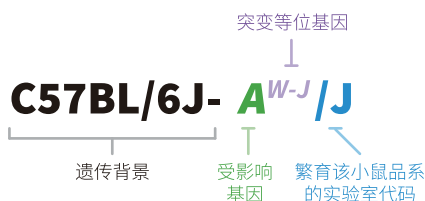
半合子 (Hemizygous): 特定位点具有不成对的等位基因。例如雄性 X 染色体上的等位基因，或不成对的转基因等位基因。

纯合子 (Homozygous): 一个特定位点上具有两个相同的等位基因。

4. 小鼠品系命名

小鼠品系标准命名法：从标准命名中可以识别实验小鼠关键特征，例如遗传背景、受影响的基因、构建技术、构建该品系的研究小组以及目前维系该品系的实验室。可以参考下图快速了解小鼠标准命名。

自发性或诱发性突变



杂交F1代

B6129SF1/J



标准品系简写

129P3/J = 129P	C57L = L
129S1/SvImJ = 129S	CBA/CaGnLe = C BACa
A/HeJ = AHe	CBA/J = C BA
A/J = A	C3H/HeJ = C3
AKR/J = AK	C3HeB/ FeJ = C3 Fe
BALB/c ByJ = C By	DBA/1J = D1
BALB/cJ = C	DBA/2J = D2
C57BL = B	NZB/BINJ = NZB
C57BL/6J = B6	NZW/LacJ = NZW
C57BL/6J ^{Ei} = B6 ^{Ei}	SJL/J = SJL or J
C57BL/10 = B10	SWR/J = SW
C57BR/ cclJ = BR	

基因敲除、敲入或者Floxed



STOCK

3个或者3个以上近交系混合背景，也可能包含远交系背景，或者是遗传背景未知

供体品系

在该品系背景下，突变首次发生或者转基因首次插入。

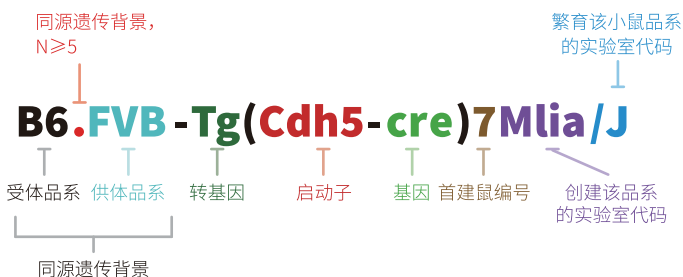
混合遗传背景=符号“;”

与受体近交系回交代数<5代。

同源或者初期同源遗传背景=符号“.”

与受体近交系回交代5代或5代以上。

转基因



决定小鼠表型的，并非只有目标突变本身。不同的遗传背景、首建鼠系、亚系等，都有可能存在差异，进而导致不同的结论。

因此，为保障研究数据的可重复性和延续性，我们也建议，当您在出版物中提及某小鼠品系时，请记录完整、标准的品系名称。

核酸内切酶介导



小鼠品系定义和繁育术语：了解小鼠的遗传背景、品系来源和特征，对于高效种群管理、实验设计及后续实验的开展至关重要。

小鼠品系定义

术语	定义	特点
近交系 Inbred Strain	同胞兄弟姐妹 (姐妹 x 兄弟) 连续交配至少 20 代而获得的品系	理论上，个体间遗传信息完全一致，个体内每个位点均为纯合
杂交系 Hybrid Strain	通过两个不同的近交系小鼠杂交获得的子代即为杂交 F1 代，F1 代雌雄交配可获得杂交 F2 代	F1 代个体间在遗传上完全一致；F2 代开始出现性状分离。
远交系 Outbred Strain	通过交配两种及以上彼此不相关的动物来维持的品系	后代在遗传上是不确定的，并且高度多样化

不同品系小鼠或者同一品系不同基因型的小鼠，在繁育方式上可能会有所不同。下图中列出了不同繁育方式的名称及定义。

小鼠繁育术语

术语	定义	示例
近交 Incross	两个有相同的纯合基因型的个体之间的交配	同一近交系小鼠 (如 C57BL/6J) 之间的交配
杂交 Outcross	两个在遗传上不相关的个体之间的交配	<ul style="list-style-type: none"> • 两个不同近交系小鼠的交配 • 不同基因型的 F1 个体之间的交配 • 任何两个不相关的个体之间的交配
互交 Intercross	两个在特定位点是杂合的个体之间的交配	<ul style="list-style-type: none"> • 基因型相同的杂交 F1 代个体之间的交配 • 在建立一个近交系时，同胞兄弟姐妹之间的交配
回交 Backcross	在一个或多个位点上杂合的个体与另一个在相同位点上纯合 (杂合个体两个等位基因中的任意一个) 的个体之间的交配	<ul style="list-style-type: none"> • 把一个杂交 F1 代个体与一个亲本个体交配 • 在开发同源品系时，将后代与某一亲本品系连续交配十代，以获得亲本的遗传背景

5. 小鼠资源数据库 >>

5.1 小鼠数据资源库

以下三个数据库是最常用的小鼠信息数据库：

- **JAX Mice Database (JAX® 小鼠资源库)**： www.jax.org/mouse-search
提供 JAX 所有小鼠品系的详细信息。
- **Mouse Genome Informatics (MGI)**： www.informatics.jax.org
提供小鼠的遗传学、基因组学、突变表型和生物学数据。
- **Mouse Phenome Database (MPD)**： www.jax.org/phenome
全面的表型数据收集，尤其是近交系小鼠。可用于小鼠品系比较或者特定品系基线数据调研。

5.2 JAX® 小鼠资源库详情

为方便科研人员，JAX 对于保有的品系均提供详细的信息。这里我们以 B6.129S2-Trp53^{tm1Tyj/J} (002101) 为例，向大家介绍如何利用 JAX® 小鼠资源库品系详情页来了解小鼠品系。

如下图所示：

- 第 ① 部分是小鼠简介，包括小鼠品系的标准名称、小鼠品系货号、以及小鼠基本介绍等。
- 第 ② 部分是订购相关信息，包括小鼠状态 (活鼠 / 冻存)、可供选择的周龄、性别以及基因型等。
- 第 ③ 部分通过四个模块对该品系做出了更详细的介绍。

如果需要进行更深入的了解和调研，可以仔细阅读这部分内容：

The screenshot shows the JAX Mouse Resource Database interface. The top navigation bar includes 'Related Strains', 'Print', and 'Mice Search'. The main content area is split into two columns. The left column (1) is yellow and contains the strain name 'B6.129S2-Trp53^{tm1Tyj/J}', the strain ID '002101', and a description of the Trp53 knockout mutant. The right column (2) is green and contains ordering options for 'Live Mouse', 'Sex' (Male/Female), and 'Age' (5 weeks). Below the ordering options is a 'GEROTYPE' section with two options: 'Heterozygous for Trp53tm1Tyj/J' (labeled as '杂合子') and 'Homozygous for Trp53tm1Tyj/J' (labeled as '纯合子'). At the bottom, a red bar (3) contains navigation tabs: 'HOW IT'S MADE', 'HOW IT'S USED', 'HUSBANDRY', and 'LEGAL'.

品系详情页模块说明：

HOW IT'S MADE	Detailed Description	该品系涉及基因或遗传信息的简要描述，包含繁育能力和表型等小鼠特征，此外，还可能包含小鼠模型的适用领域、特殊注意事项等。
	Development	记录小鼠的构建过程和引进到 JAX 前后的繁育历史。对于部分品系，还包含 JAX 的 SNP 分析结果。因此，这部分信息是我们了解和判断小鼠遗传背景的重要依据。
	Genetics	小鼠品系涉及的等位基因及相关信息，如突变相关染色体、突变构建方式和突变位点等。该部分也链接到 MGI 数据库，可以藉此查看该等位基因相关的数据。
HOW IT'S USED	Disease terms	与小鼠品系所涉及基因相关的人类疾病信息。
	Phenotype	该品系小鼠可能会出现的表型信息。
	References	小鼠品系相关的参考文献，包括品系构建相关的原始文献、转基因或突变等位基因相关的文献和使用该品系发表的研究文献。注：为保障研究数据的可重复性，特此倡议，当您在出版物中使用某小鼠品系时，请引用原始文献，并在材料和方法部分提及 JAX 品系号。
HUSBANDRY	Suggested Controls	建议使用的对照小鼠
	Genotyping Protocols	基因型鉴定方法
	Animal Health Reports	小鼠健康报告
	Breeding Considerations	主要是 JAX 的种群管理员在维护该品系时观察到的与繁育相关的小鼠品系特征和表型，对于存在繁育表现不佳和对环境敏感的小鼠品系，这里会列出非常有价值的繁育建议和注意事项。
	Breeding Strategy	提供了该品系在 JAX 维系种群的配繁策略，可作为引进繁育对时的参考。
	Appearance	小鼠外观
	Dietary Information	饲料信息
LEGAL	Term of Use	<ol style="list-style-type: none"> 1. 使用 JAX® 小鼠的一般条款和条件的介绍 2. 如果订购品系前需要获取对应 License，可参考对应说明了解如何获取该品系 License；如需咨询 License 相关信息，亦可直接联系 Email: TechTran@jax.org 进行咨询
	Payment Terms and Conditions	付款条款和条件
	The Jackson Laboratory's Genotyping Promise	JAX® 小鼠基因型，表型和繁育能力相关声明

6. 小鼠品系选择

6.1 选择小鼠品系需要考虑的因素

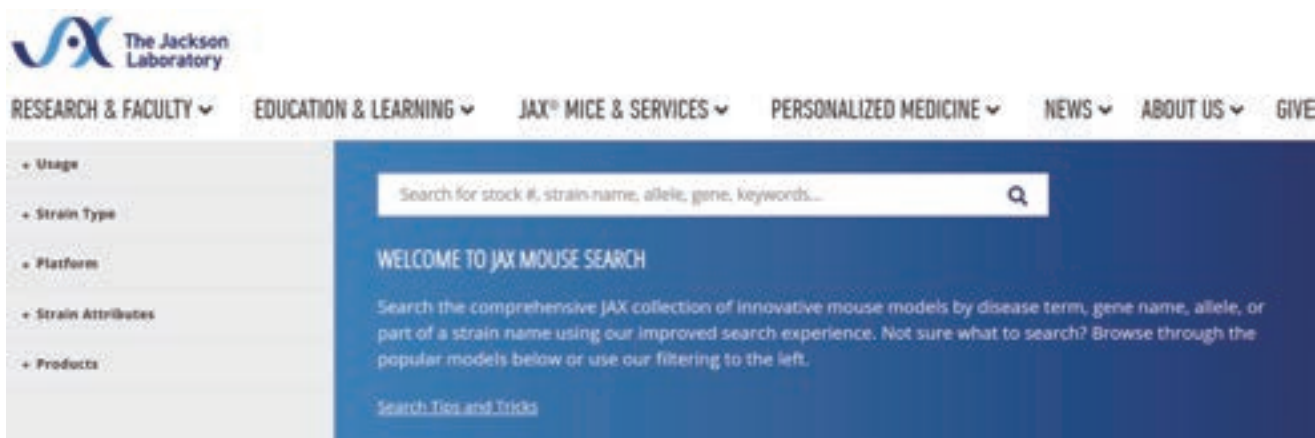
在决定选用哪个品系的小鼠开展研究时，研究人员通常能考虑到与研究直接相关的要点，例如所感兴趣的基因、突变类型、疾病类型以及需要解决的科学问题等。然而，除了以上因素，实际上还有很多与小鼠模型相关的因素可能会影响您的研究，如果提前了解这些因素，则可以规避风险。这里我们列出一些常见的因素以供参考：

- 同样的突变在不同的遗传背景上，表型可能会有所差异。
- 不同亚系的小鼠，尽管名称相似，表型却有可能不同。
- 对基础背景品系的研究有助于理解重组近交系小鼠的特征，进而选择合适的重组近交系小鼠品系进行研究。
- 请提前确保您的设施满足所要引进品系的饲养和实验需求。
- 对于移植相关的研究，需要提前了解该种群不同个体之间组织相容或排斥的情况，以避免影响您的研究。因为即使是近交系，在高度近交 60 代之前，也很难保证 100 余个组织相容相关的基因位点完全纯合。
- 了解设施动物饲养员或技术人员的繁育及饲养经验。在引入一个全新品系时，尽可能地多方沟通，以确保他们能正确繁育您的特定品系。

6.2 小鼠品系搜索方法

杰克森实验室小鼠资源库目前保有 12,500 多个小鼠品系，我们可以使用 JAX 强大的小鼠搜索引擎 (<https://mice.jax.org>) 来查找所需品系。常见的查找方式有：

关键词搜索：下图为 JAX® 小鼠搜索引擎主页界面，可以通过品系货号 (stock #)、品系名 (strain name)、等位基因名 (allele)、基因名 (gene) 以及其他关键词 (比如小鼠模型常用名：NSG、OT-1) 等进行搜索。



根据分类进行聚焦检索：当用关键词搜索返回结果后，您可以点击相应的小鼠品系名进入品系详情页面。如果返回多个结果，可以使用查询结果页面左侧的分类筛选栏进行筛选，以快速聚焦所需品系 (注意，在进行下一个模型搜索前，如果筛选要求不一样，请确保将筛选栏中的筛选条件清除)。

如下图所示，左侧筛选栏包含以下几个部分：

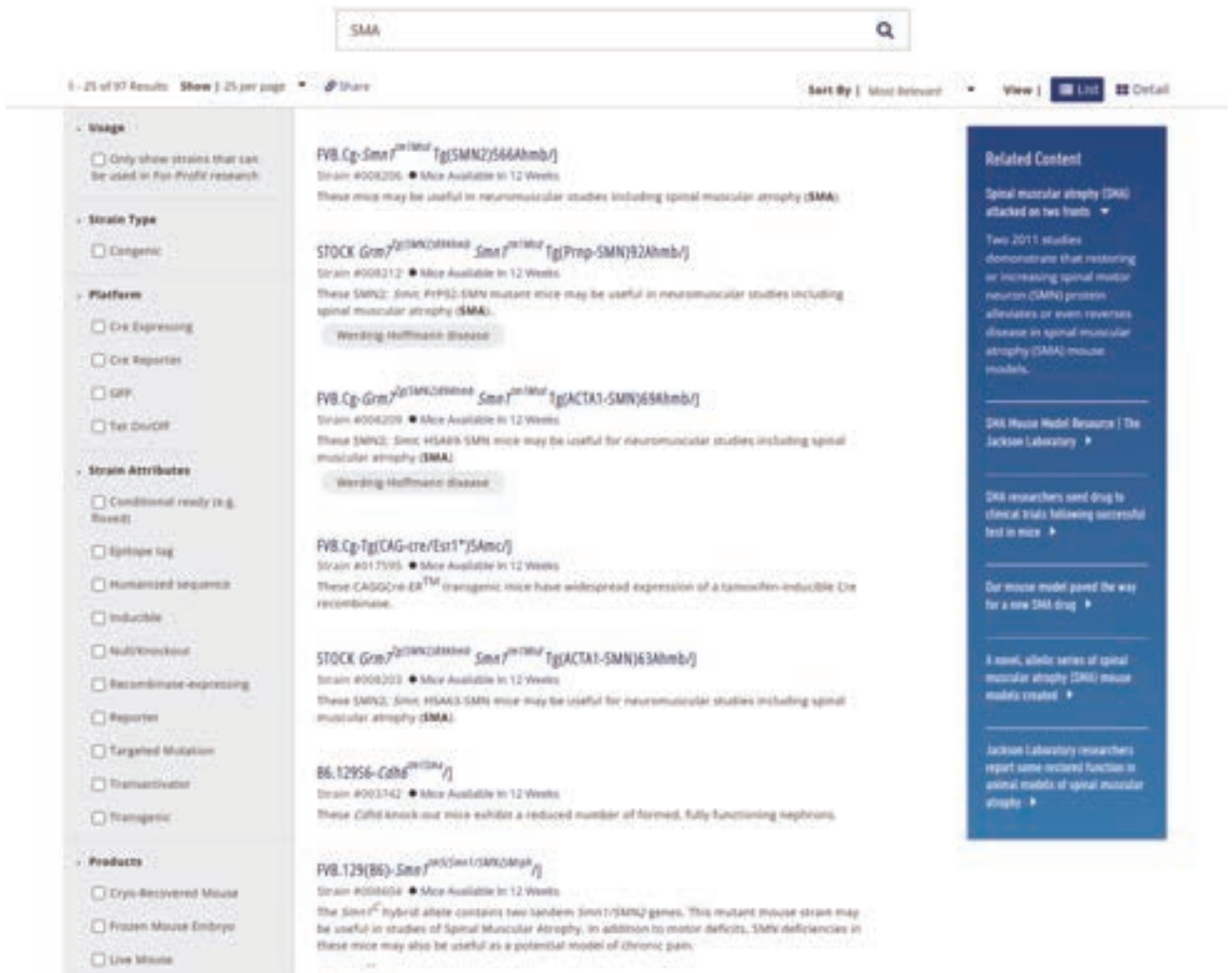
用途 (Usage): 勾选后显示可以提供给盈利机构使用的小鼠模型 (注: JAX 的小鼠模型通常都可以提供给非盈利机构)

品系类型 (Strain Type): 包括遗传背景是否同源 (Congenic)、近交系 (Inbred Strain)、远交系 (Outbred)、杂交品系 (F1 or F2 Hybrid) 等

平台类型 (Platform): 包括 cre 系统 (Cre Expressing, Cre Reporter)、绿色荧光标记 (GFP)、四环素诱导系统 (Tet On/Off) 等

品系属性 (Strain Attributes): 包括条件性敲除 (Conditional Ready)、敲除 (Null/Knockout)、靶向突变 (Targeted Mutation)、转基因 (Transgenic) 等

产品类型 (Products): 包括活体小鼠 (Live Mouse)、冻精 (Frozen Mouse Sperm)、冻胚 (Frozen Mouse Embryo)、小鼠 ES 细胞系 (Mouse ES Cells) 等。



如上图右上角所示：经过筛选后如仍有多个小鼠品系时，可以使用右上角的排序选项 (Sort By)，从中选择按照供货状态 (Availability)、热门度 (Most Popular)、相关度 (Most Relevant) 或者品系名称的字母升 / 降排序 (Strain Name (A-Z) / (Z-A))。

此外，品系介绍的显示方式可以在排序选项的后方 View 进行更改，有列表 (List) 显示和细节 (Detail) 显示两种方式。

根据研究方向进行浏览：在搜索引擎主页的下方，分类总结了多种特色研究领域的相关模型，您可以点击进入，以快速查看相关研究方向的小鼠模型。

**重度
免疫缺陷小鼠**



**新冠
模型小鼠**



**癌症
模型小鼠**



**渐冻症
模型小鼠**



**阿尔兹海默症
模型小鼠**



**CRE
工具小鼠**



**II 型糖尿病
模型小鼠**



**高血压
模型小鼠**



**FcRn
模型小鼠**



7. 对照组小鼠的选择策略 >>

7.1 近交系小鼠的对照组设置

疾病模型的对照选择

1. 用无相关疾病的，同时遗传背景最接近的品系或者是亚系作为对照。
2. 使用经过实验处理或遗传改造，消除了疾病表型的品系作为对照。

例如：I型糖尿病模型 NOD/ShiLtJ (001976)。选择 1, NOR/LtJ (002050), 这个品系和 NOD 品系的 MHC 相同，基因组相似度有 88%，但是没有胰腺炎和糖尿病症状。选择 2, NOD.CB17-Prkdcscid/J (001303), 由于 Prkdc 突变，没有 T 细胞，同时也没有胰腺炎表型和糖尿病表型。

非疾病模型的对照选择

使用近交系小鼠开展实验时，更常见的场景是实验处理上的对照，比如给药组和不给药组、感染组和不感染组等。这种情况，最好使用同窝小鼠开展实验，以尽可能保证除了处理不同，它们的遗传背景、生长环境等均一致。如果需要用到多窝小鼠，需要将这些小鼠随机分配到不同的实验组，以避免偏差。

7.2 同源近交系突变小鼠的对照设置

亲本处于杂合状态：(例 B6.Cg-Tg (K18-ACE2) 2Prlmn/J #034860)
选择同窝小鼠中同性别的野生型小鼠作为对照最为理想。

亲本处于纯合状态：(例 B6.129P2-Apoetm1Unc/J #002052)

1. 选择同背景的近交系小鼠作为对照。这种情况需要注意的是，该近交系小鼠和突变小鼠之间的差异有可能不止突变基因本身，尤其是当两个种群分开繁育的代数越多，差异就越大。
2. 将纯合突变近交系与背景品系配繁得到杂合 F1 代，F1 代继续配繁 (即亲本处于杂合状态)，选择 F2 代小鼠中同窝同性别野生型小鼠可以作为对照。

注意：第二种方案可以降低突变小鼠与对照组之间除突变基因以外的遗传背景差异，使实验结果更加严谨。

7.3 混合遗传背景突变小鼠的对照设置

亲本是杂合状态：选择同窝野生型小鼠作为对照。

亲本是纯合状态：需要专门繁育一个种群作为对照。该种群为混合遗传背景中的小鼠野生型杂交的 F2 代。(杂交 F1 代拥有父本和母本各自 50% 的遗传物质，因此个体之间是一致的；而杂交 F2 代中，亲本的等位基因开始分离，不同个体之间开始出现差异。)

例如：在 129 品系的 ES 细胞系上构建的靶向突变，再将突变 ES 细胞注射到 C57BL/6J (B6J, 000664) 囊胚中，从而得到 B6J 和 129 的嵌合体小鼠。这些嵌合体小鼠通常会与 B6J 回交得到后代。如果发生靶向突变的细胞发育成生殖细胞，这些后代就是 B6J 和 129 的杂交个体。杂交个体之间继续配繁获得目标突变种群，这个种群即是 B6J 和 129 混合遗传背景。在这种情况下，可以选择 B6J 和 129 野生型杂交的 F2 代作为对照。

8. 小鼠基因型鉴定 >>

通常新引进的小鼠在建立繁育对之初，以及配繁产生的后代小鼠都需要进行基因型鉴定，以确保实际使用的小鼠的基因型与预期一致。

基因型鉴定往往针对基因工程小鼠，以下情况通常不需要或者难以进行常规的基因型鉴定：

- 近交系小鼠。
- 一些特殊品系 (比如可通过明显表型确定基因型的品系，如 NOD/ShiLtJ)。
- 对于纯合种群，如果亲本均为纯合子，则所有后代小鼠也应为相同基因型。因此对亲本 (繁育对) 进行基因型鉴定后，无需再对其后代小鼠进行鉴定。

8.1 基因组的提取方法

基因组 DNA 提取通常是开展基因型鉴定的第一步，这里我们将 JAX 常用的基因组 DNA 提取方法附在下方，供大家参考。需要注意的是，DNA 提取方法的选择通常与后续检测方法的要求有关。如果所用的检测方法特殊，可能需要根据情况选择其他 DNA 提取方案。

- **快速 DNA 提取法：这是一个相对简便快速的方法，对于常规的 PCR 反应而言，该方法获得的 DNA 纯度通常是足够的。**

1. 剪尾 (2 mm) 置于离心管或 96 孔板，加 75 μ L 25 mM NaOH / 0.2 mM EDTA。样品放置于 98 $^{\circ}$ C 环境下 (PCR 仪)，1 小时后，冷却至 15 $^{\circ}$ C。
2. 冷却后，加入 75 μ L 40 mM Tris-HCl (pH 5.5) 混匀，4000 rpm 离心 3 分钟，取上清液 (2 μ L，或 1:100 稀释后取 2 μ L) 进行 PCR 扩增。

- **利用氯仿 / 苯酚 (蛋白酶 K) 从鼠尾提取 DNA 的方法：此方法比快速提取法得到的 DNA 纯度更高。**

1. DNA 裂解液配方：50 mM Tris-HCl pH 8.0；100 mM EDTA pH 8.0；100 mM NaCl；1% SDS
2. 剪尾 (0.5 mm) 至于 1.5 mL 有盖离心管。加 0.5 mL 含有蛋白酶 K 的 DNA 裂解液 (蛋白酶 k 终浓度 \leq 0.5 mg/mL)。
3. 将离心管放置于 50 - 55 $^{\circ}$ C 环境中，轻晃过夜。在这个步骤中，轻轻晃动可以帮助破坏尾部组织，促进 DNA 提取。
4. 简单离心 (使离心管盖子部分的裂解液回到管体内部)，在离心管盖子内填充高真空硅脂密封膏 (道康宁 HVG 高真空硅脂 DOW CORNING high vacuum grease 密封膏)。(可略)
5. 离心管中加入 0.7 mL 中和苯酚 / 氯仿 / 异戊醇 (25:24:1)，摇床摇晃 1 小时 (不建议涡旋)。
6. 13000 rpm 离心 5 分钟，取 0.5 mL 上清液转移到新的离心管。
7. 加 1 mL 无水乙醇 100% 上下倒置几次 (沉淀 DNA)，离心 5 分钟，小心去除上清。
8. 再加入 0.5 - 1 mL 70% 乙醇 (-20 $^{\circ}$ C)，上下倒置几次，离心 5 分钟，小心去除上清，并移除管内所有液体 (可过夜晾干)。
9. 加 100 - 200 μ L TE buffer，在 65 $^{\circ}$ C 时，重悬 DNA，并用移液枪充分混匀。
10. 使用 10 - 20 μ L 限制性内切酶进行消化，获得 20 - 50 μ g DNA (0.1-0.25 μ g/ μ L)。

• **血样中提取 DNA 的方法：**

裂解液： 0.32 M 蔗糖溶液， 10mM Tris-HCl (pH 7.5)， 5 mM MgCl₂， 1% v/v Triton X-100

PBND 溶液 (非离子表面活性剂PCR buffer)*： 50 mM KCl， 10 mM Tris-HCl (pH 8.3)， 2.5 mM MgCl₂， 0.1 mg/mL 明胶， 0.45% (v/v) 乙基苯基聚乙二醇， 0.45% (v/v) Tween 20。

* PBND 溶液需高温高压灭菌并溶解明胶， 需冷冻保存。

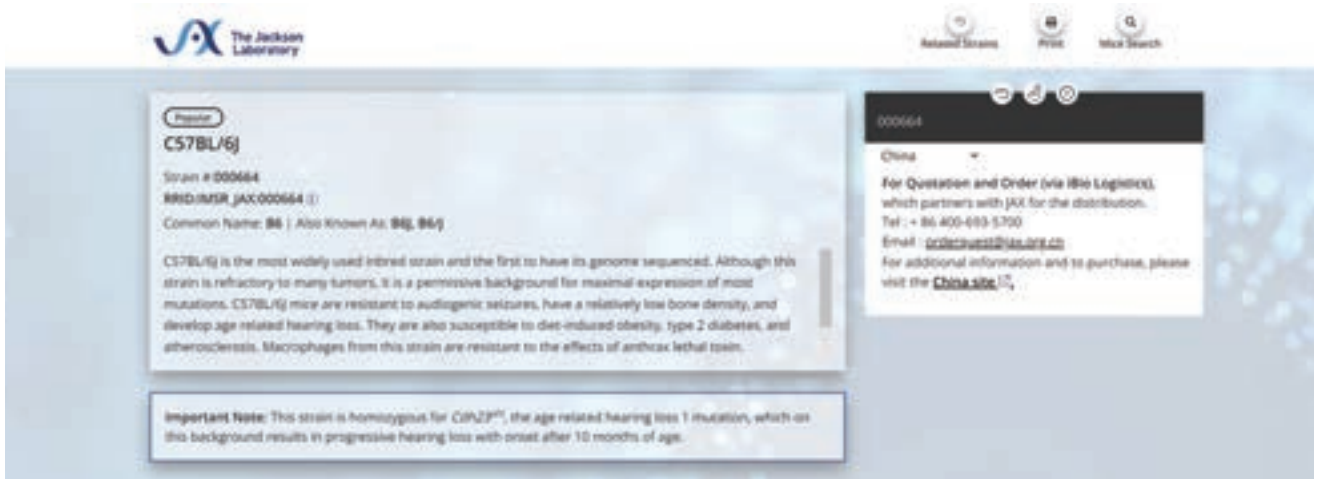
1. 使用毛细管对小鼠目内眦取血 65 - 100 μ L 置于抗凝管或 1.5 mL 离心管 (经过 20 μ L 10 mM EDTA 预处理)。采血后需要将血液和抗凝剂充分摇匀以防结块，可置至于冰上短暂储存。
2. 血液样品中加入 200 μ L 裂解液，涡旋，使样品与裂解液完全混匀。
3. 离心 (16000 g， 25 秒)，弃上清，并重复步骤 2，直至除尽血红蛋白。
4. 预备含有蛋白酶 K (60 μ g/mL) 的 PBND 溶液，使用 100 μ L PBND 溶液重悬细胞，55 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。
5. 将溶液加热至 97 $^{\circ}$ C，维持 10 分钟，以抑制蛋白酶 K 的活性，终止裂解反应。
6. 取 1 - 5 μ L DNA 样品进行 PCR 扩增。

更多信息扫描以下二维码

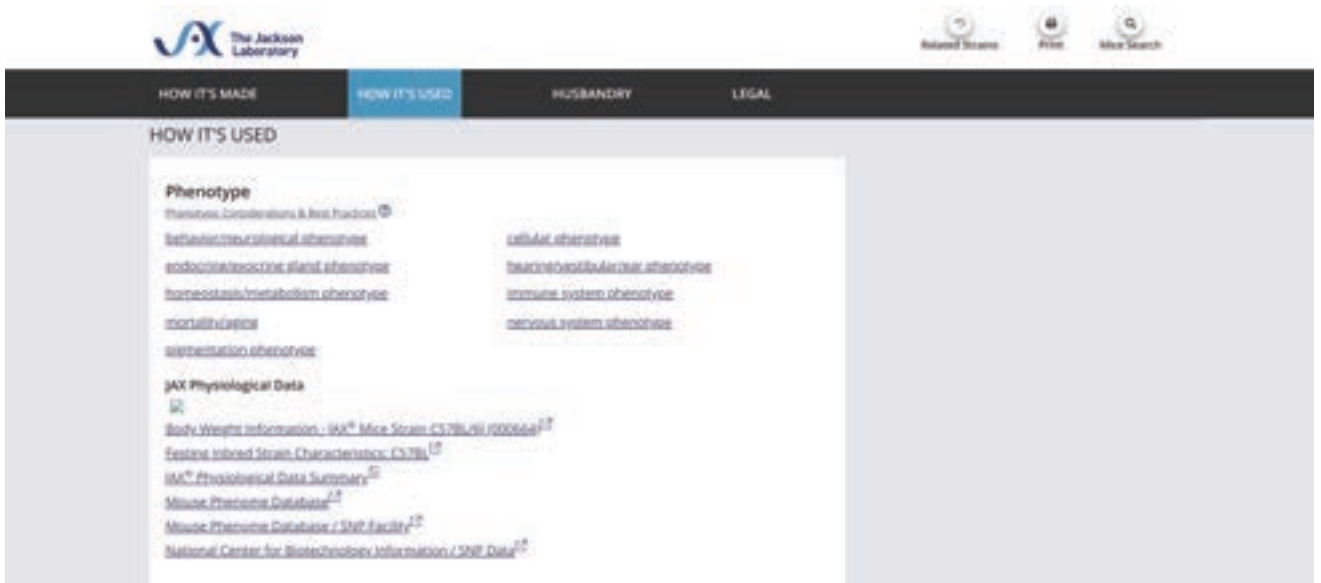


8.2 基因型鉴定方法查找

在成功提取小鼠基因组后，即可根据情况开展基因型鉴定。JAX 的绝大部分小鼠品系，均可在品系详情页上找到相应的鉴定方法。如果需要，可以在 <https://mice.jax.org> 通过品系号检索到小鼠的品系详情页面，选择 Husbandry-genotyping protocol，选择所需的基因型即可查看其鉴定方法。如下图：



基因型鉴定方法的页面中，JAX 提供了推荐使用的实验方法 (Protocol - 位于品系名下方)，注意事项 (Notes)，预期的结果 (Expected Results)，引物设计 (JAX protocol-protocol primer) 以及实验参数设定等 (JAX protocol-Reaction A / Cycling)，如下图：



8.3 常见基因型鉴定方法介绍

除了最为常用的标准PCR方法，JAX 常用的鉴定方法还包括 qPCR、探针 / 终点分析法、测序等。这里我们将不同方法的差异和应用列举出来，供大家参考。

鉴定方法	原理	应用场景
标准 PCR 方法	根据 PCR 产物的分子量差异 (通常需大于 100 bp) 进行基因型鉴定	鉴定基因工程小鼠的基因型，通常可以根据扩增条带的情况区分野生型、杂合子和纯合子
qPCR	定量 PCR，通过 CT 值计算，可以对目的片段进行定量分析，或者对不同品系间同一片段进行量的比较	<ul style="list-style-type: none">• 区分半合子和纯合子转基因小鼠，$\Delta CT_{\text{纯合子}}$ 与 $\Delta CT_{\text{半合子}}$ 相差约等于 -1.0；• 鉴定转基因拷贝数
探针 / 终点分析 (Probe / Endpoint analysis)	使用 Taqman 探针检测扩增产物的情况。PCR 扩增结束后，检测产物中不同探针的荧光强度并作散点图，鉴别不同 PCR 产物进而进行基因型鉴定	基因工程小鼠的基因型鉴定 (野生型，杂合子，纯合子)；适用于扩增片段较短，琼脂糖电泳无法区分的情况，也可用于点突变的鉴定
测序法	通过引物扩增出目标片段后进行测序	常用于单点突变的鉴定

8.4 基因型鉴定常见的问题和注意事项

基因型鉴定实验虽然简单，但也有可能出现各种意料之外的结果，尤其当需要鉴定一个新品系的时候。从准备样品的角度，应尽可能地设置完整的实验对照，以帮助我们尽早发现问题、优化实验。基因型鉴定中常用的对照如下：

对照组	目的
野生型小鼠样本对照	可用作阴性对照，或者是杂合子 / 半合子的野生型条带对照，以帮助判断实验结果
无模板空白对照	排除 PCR 体系污染
阳性小鼠样本对照 (如有)	虽然阳性样本并不总是可获得，但仍应当尽量引入以排除假阴性的可能。例如从供应商直接购得的小鼠，或者是过去鉴定过没有问题的小鼠样品



更多基因型鉴定相关的问题，可以参考以下资料或通过邮件、电话与杰克森实验室技术支持联系。

技术支持

电话：400-001-2626

邮件：micetech@jax.org.cn

<https://www.Jax.org/JAX-mice-and-services/customer-support/technical-support/genotyping/troubleshooting>

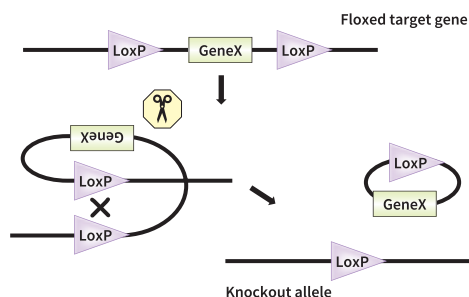
9. Cre-Lox 基础信息

9.1 Cre-Lox 基本原理

Cre-Lox 系统作为一种广泛使用的重组酶系统，可用于组织特异性及诱导性基因敲除、敲入及示踪等。

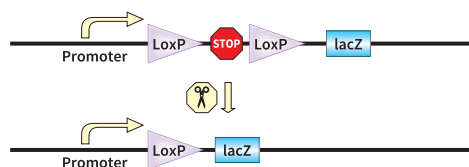
Cre-Lox 系统实现条件性敲除 (Conditional Knockout, cKO)

如下图所示，Cre 重组酶可以介导两个同向 LoxP 位点发生同源重组，致使“Gene X”处序列被删除，如果删除部分的序列使得该基因发生移码突变，则达到基因敲除的效果。携带 LoxP 的小鼠被称为 Floxed 小鼠，当它与组织特异性 Cre 小鼠交配后，可以在特定组织中敲除目标基因。



Cre-Lox 系统实现条件性表达 (Conditional Knockin, cKI)

当我们向小鼠转入某个基因的编码序列，并在这段编码序列前面插入“LoxP-STOP-LoxP, LSL”元件，即得到 KI 基因敲入小鼠模型。该模型并不表达插入的基因；当存在 Cre 酶时，STOP 原件被删除，插入基因才会表达。根据表达基因的不同，条件敲除的应用其实非常广泛。例如，如果插入的基因编码 LacZ、GFP 等显色或荧光基因时，可搭配 Cre 实现目标细胞示踪的目的。除此外，还通过插入其他特殊基因，比如白喉毒素、光激活通道等，实现特定细胞敲除、激活等实验目的。

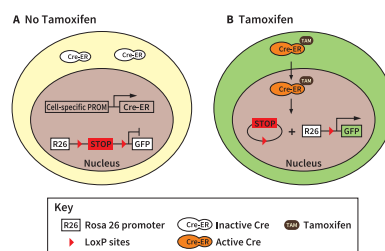


Cre-ER 系统

Cre-ER 是 Cre 重组酶与雌激素受体 (estrogen receptor) 激素结合域的融合蛋白，停留在细胞质中。在与雌激素或雌激素类似物 Tamoxifen (他莫昔芬) 结合后，Cre-ER 可以进入细胞核中驱动 LoxP 位点重组。因此，组织特异性 Cre-ER 和 LoxP 的结合使用，可以实现对基因空间、时间的双重调控。Cre-ER 的改进版本—Cre-ERT2，在雌激素结合域携带 G400V/M543A/L544A 三位点突变，其在无诱导物情况下本底活性更低，而对 Tamoxifen 的敏感性却更高。

Inducible Cre

Fusion with Estrogen Receptor Ligand Binding Domain



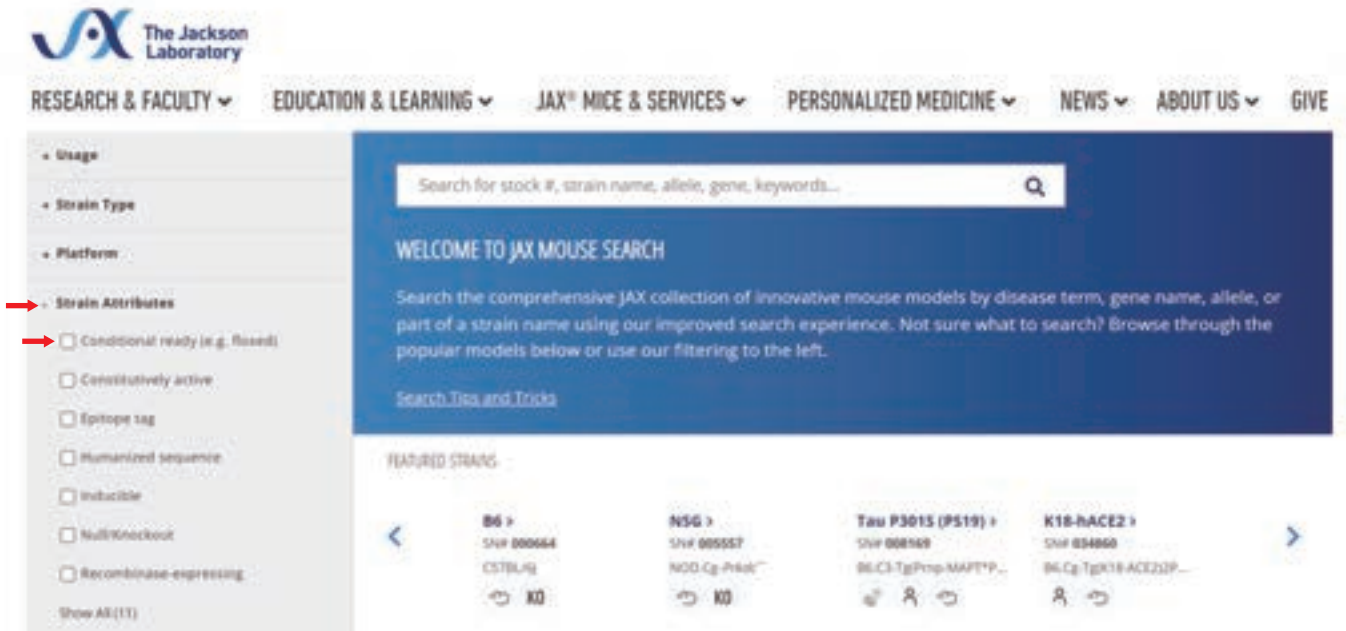
Control when Cre moves to the nucleus, when recombination occurs
Still dependent on when the promoter is active



有关 Tamoxifen 的使用方法可以参考链接 www.jax.org/research-and-faculty/resources/cre-repository/tamoxifen

9.2 Cre-Lox 数据资源库

Floxed 及 Cre 品系查找：可以利用 2.4 部分提到的 JAX® 小鼠数据库搜索引擎来进行搜索。在搜索框中输入目标基因的名字，在左侧筛选框内选择“Conditional ready” (floxed) 或者“Cre Expressing” (Cre) 即可。



常用 Cre 小鼠目录：JAX 提供了多种在不同组织中已经验证过特异表达的 Cre 小鼠，您可以在该网页中寻找您想要的特定组织 Cre 表达小鼠。

<https://www.jax.org/research-and-faculty/resources/cre-repository/characterized-cre-lines-jax-cre-resource>



更多 Cre 小鼠详情：可通过 MGI Cre Portal 获取 (www.creportal.org)



9.3 Cre-Lox 小鼠配繁和鉴定策略

Cre-Lox 小鼠配繁: 条件敲除 (cKO) 的小鼠基因型通常是 Cre/+; Flox/Flox, 一般在 F2 代才能获得该基因型的小鼠; 条件表达 (cKI) 的小鼠基因型通常是 Cre/+; Flox/+, 一般在 F1 代即可获得。根据所需基因型和原始品系的基因型, 即可推算出合适的配繁策略。需要注意的是, 我们往往还需要在配繁中得到对照小鼠, 因此在设计配繁策略时也要考虑到这一点。

想要了解更多关于 Cre-LoxP 小鼠配繁知识以及注意事项, 请访问如下链接查看:



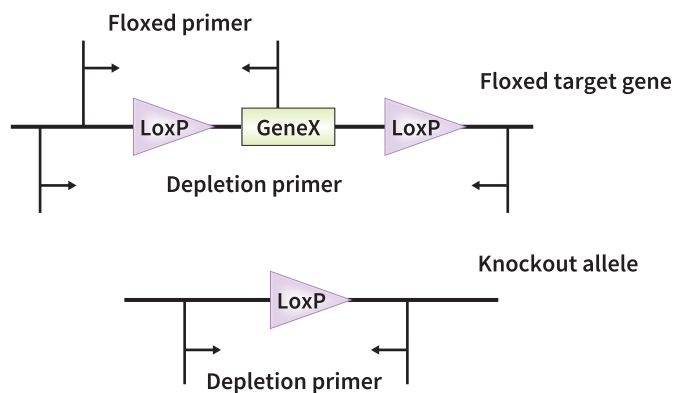
<https://www.jax.org/news-and-insights/JAX-blog/2011/september/cre-lox-breeding>



<https://www.jax.org/news-and-insights/JAX-blog/2013/september/a-dozen-facts-you-didnt-know-about-cre-lox>

Cre-Lox 小鼠鉴定: 首先需要鉴定小鼠是否为目标基因型。例如, cKO 小鼠的目标基因型是 Cre/+; Flox/Flox, 此时同时使用原始 Cre 品系和 Floxed 品系的基因型鉴定方法即可。需要注意的是, 如果使用了全身表达 Cre, 则需重新设计 Floxed 基因敲除后的引物方可实现鉴定。

除此以外, 我们往往还会鉴定小鼠条件性敲除 / 表达是否成功, 这通常可以根据研究需求在不同水平进行分析。从基因组水平鉴定条件敲除的情况是比较常见的选择。通常会通过提取目标组织的 DNA, 设计特殊引物进行 PCR 鉴定。引物设计的策略可参见下图:



除此以外, 还可以从转录水平和蛋白水平的角度设计方案鉴定条件敲除的情况。值得注意的是, 对于条件敲除或敲入的鉴定, 在具体的实验场景下往往还有更多细节需要注意讨论和分析, 难以一概而论。因此, 在这里我们也就不再一一列举了。

10. 小鼠繁育 >>

10.1 引进繁育对时需考虑的问题

引进繁育对的数量：对于繁育能力正常的品系，建议一次引进 2-4 个繁育对以确保种群建立。小鼠的遗传背景往往会影​​响表型，因此不建议单独引进雌鼠或雄鼠。

繁育对小鼠的选择：通常的做法是尽可能随机选择年轻、健康的雌鼠和雄鼠，在 6-12 周龄交配。配繁前，要注意小鼠的外生殖器有无明显缺陷，如雌鼠阴道隔、雄鼠隐睾等。有的设施会建议使用有经验的雄鼠，这被认为会让配繁更加高效，但通常并非必须。除此以外，大于 12 周龄的小鼠也并非不能配繁，只是随着周龄的增大，有效生育周期缩短，对雌鼠/雄鼠的接受度也可能会有所降低。

繁育对的雌雄配比：通常会使用一雌一雄 (Pair) 或者两雌一雄 (Trio) 合笼交配。一雌一雄的优势是方便进行谱系记录，而两雌一雄则可以形成“阿姨效应”，更好地照顾幼鼠。当然，对于某些繁育周期特别短的雄鼠，为了充分利用雄鼠的繁殖期，也可以采用雌鼠轮换的策略进行繁殖，即每周将雄鼠与新的雌鼠交配，以在短期内产生尽可能多的后代。在繁育对建立以后，JAX 的经验是始终保持合笼饲养，这样不仅能利用雌鼠产后发情期提高繁殖效率，还可以减少雌鼠的焦虑感，改善母性。

繁育对的基因型：对于基因工程小鼠，往往还需要考虑雌雄的基因型选择。然而针对这一点，很难有统一的建议，整体来说需要考虑到不同基因型、不同性别的小鼠的育性、目标小鼠的基因型、目前可获得的基因型以及子代基因型鉴定的方便程度等诸多因素，进行综合判断。在 JAX 的品系详情页中，有详细列出相应品系的繁育信息及配繁策略 (详见本书 2.4.2)。如果对此有进一步疑问，欢迎通过电话或邮件咨询杰克森实验室技术支持。

10.2 如何根据研究需求制定繁育策略

一项研究所需的小鼠数量是由实验设计、表型的方差和所需的统计能力共同决定的。我们需要根据实验需求来综合考虑种群规模，进而选择合适的繁育策略。实验小鼠通常处于两种状态，被积极使用状态 (actively used) 以及维持状态 (maintain)，不同状态的种群繁育需要考虑的问题不尽相同。

积极使用状态小鼠的繁育策略：

- 1) 只携带一种突变或转基因的小鼠模型：假设你每周需要 20 只携带突变的纯合雄性小鼠。如果是杂合亲本交配，获得目标小鼠的概率是 1/8。因此，为了获得 20 只目标小鼠，这个种群每周需要生产 160 只小鼠。您可根据计算数据以及该品系小鼠的繁育情况建立足够数量的繁殖对。

2) 携带两个或更多突变和/或转基因的复杂小鼠模型：在生成复杂小鼠模型时，通过育种建立多个等位基因模型需要大量的时间和资源投入，因此要仔细制定一个详细的策略，以产生所需的实验小鼠。针对这种情况，很难有一个放之四海而皆准的方案，但是您可以从以下这些角度进行考虑：

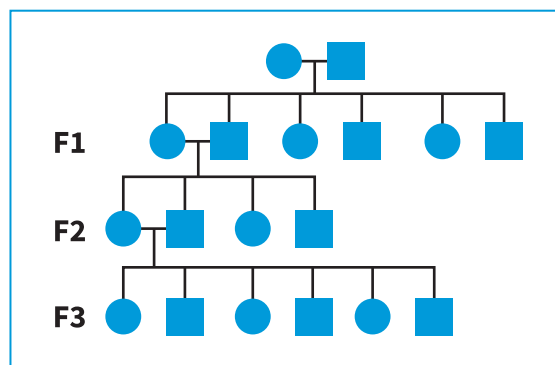
- 根据研究需求确定目标基因型。
- 了解不同基因型的育性和致死情况, 以确定用于繁育的亲本基因型。
- 了解不同突变所在染色体号。如果突变基因在不同染色体上，你可以依靠传统的孟德尔遗传学来设置亲本的基因型和计算后代基因型比例。如果它们中的任何两个在同一染色体上，甚至紧密连锁，您可能需要调整育种方案。
- 了解小鼠遗传背景，以确定合适的对照 (参考本书 3.2)。对照小鼠和实验小鼠是在同一个种群中产生，还是需要建立单独的种群，最好能在制定繁育策略时及考虑到。
- 尽量使目标基因型的比率保持在 1/8 (12.5 %) 或更高，避免任何目标基因型比率低于 1/16 (6.25 %) 的杂交。
- 使用 Punnett 方块 (见下图) 计算来确定每个杂交的预期孟德尔比率，这样你就可以帮助确定每个杂交需要多少只小鼠。这是关键的一步，因为如果你在每一代中没有从亲本产生足够的小鼠，就会增加产生你的新模型所需的时间长度。

Punnett Square						
亲本基因型	Cre	0	X	亲本基因型	Lox	0
Cre	Cre/Cre	Cre/0		Lox	Lox/Lox	Lox/0
0	Cre/0	0/0		+	Lox/+	+/+

处于维持状态的小鼠繁育策略：

在有些情况下，研究人员可能需要维持一个品系的小鼠但不扩大它的规模。如何有效地维持该品系并尽量减少亚品系的发展呢？以下是几个可以考虑的策略。

- 保持至少两代小鼠，每代包括两到三对姐妹兄弟的繁殖 (共四到六对)。在年轻一代的小鼠被证明有生育能力之前，不要淘汰任何年老繁殖对。
- 维持单一亲本谱系：新的一代只从一对亲本中产生。除非您担心繁殖性能，如近亲繁殖抑制 (右图)。
- 密切监测繁育性能。随着年龄的增长，繁育能力下降，及时建立下一代繁育对。
- 尽量将繁殖对的年龄范围控制在 8 个月以内。
- 每 10 代回交一次。当用标准近交方式维持一个突变种群，每 10 代与原始近交系回交，以防止亚系产生。
- 考虑对该品系进行冷冻保存，以保存其独特的遗传特性 (例如突变、同源区、新品系)。同时也作为风险保障，在遇到育种失败或发生其他灾难时能够迅速恢复该品系。



10.3 繁育相关建议

当小鼠繁育出现问题，可根据情况参考以下建议：

问题类别		方法
小鼠		<ul style="list-style-type: none"> • 如雌鼠母性不好或无泌乳能力，可选择代乳鼠。 • 除非特殊情况，建议将雄鼠留在配繁笼中，移除雄鼠可能会对雌鼠造成焦虑，进而导致遗弃或残食幼崽。 • 增加筑巢材料和富集物(如玩具小屋或者刨花)，以减轻小鼠压力。
环境	气味	<ul style="list-style-type: none"> • 触摸小鼠时戴手套(操作每个鼠笼都要更换新的手套)，或者使用干净的镊子。
	光照	<ul style="list-style-type: none"> • 适当延长暗周期有可能改善小鼠育性。
	声音	<ul style="list-style-type: none"> • 确保小鼠远离门或水池等使用频繁又容易产生噪声的区域。提醒动物护理人员在触摸小鼠或在鼠房操作的时候动作轻缓，避免出现响动。在某些特殊情况下可以提供背景白噪声，以降低突然出现的噪声对小鼠产生的惊扰。 • 小鼠可能会对机器，施工等造成的震动敏感，建议将您的小鼠笼架与墙壁保持一定的距离。
	饮食	<ul style="list-style-type: none"> • 尝试更换饲料，饮食中的脂肪含量会对小鼠的健康和繁育表现造成很大的影响。如果您正在使用4%脂肪含量的饲料，可以尝试改成6%的或者介于4%到6%之间的饲料。
人	操作	<ul style="list-style-type: none"> • 太过频繁的换鼠笼以及频繁的去检查小鼠的状态可能会使小鼠焦虑。 • 避免在雌鼠准备生产或生产期间换笼，等到幼崽满两天或者腹部出现乳斑(milk spots)之后再换笼。

除了上述原因，也需考虑到繁育对年龄的问题。通常小鼠可以在9个月大之前持续繁育，如果年龄过大或60天内无小鼠出生，建议更新繁育对。

如有任何问题，建议及时与动物管理人员联系，也可及时寻求杰克森实验室技术支持的帮助。

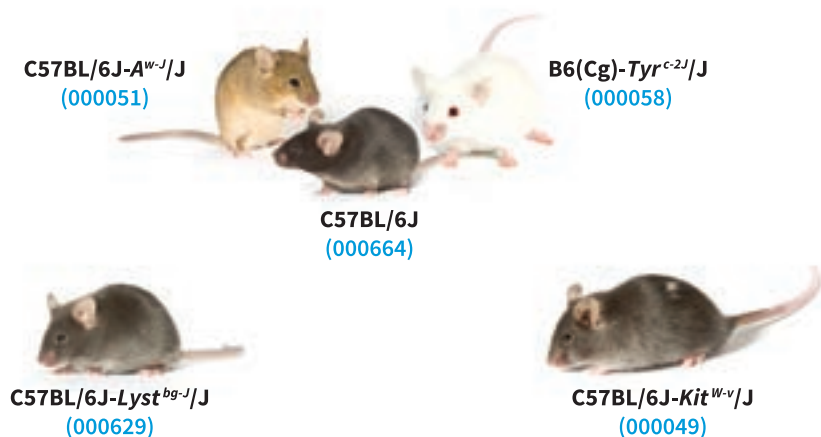
11. 小鼠遗传质量

11.1 遗传漂变

在小鼠的繁育过程中，即使没有选择压力，由减数分裂或 DNA 修复错误引起的随机突变也总是发生，进而导致种群基因组变化，这一现象即称为遗传漂变。遗传漂变无法避免，而由漂变带来的突变则在群体中随机固定或消失。在近交系小鼠种群中，通常每 6-9 代就可能会有一个位于编码区域的突变被固定下来 (Drake et al., 1998; Chamaray and Hurst, 2004)。

C57BL/6 小鼠出现的多种毛色，即是一种“看得见”的遗传漂变；除此之外，还有很多“看不见”的遗传漂变，例如 C57BL/6N 亚系中出现的视网膜变性 (Crb1rd8 突变)。现有 50 多种不同的 C57BL/6 亚系，包括 C57BL/6J，C57BL/6N，C57BL/6Nmg，C57BL/6JKun 和 C57BL/6JolaHsd 等，他们在遗传和表型上都已出现差异，使用不同的亚系开展实验很可能会得到不同的结论，也为数据的延续性带来风险。因此，充分了解所用小鼠的遗传背景，精确到亚系，并据此选择合适的对照对科学研究而言很重要。

可见的遗传漂变 毛色基因突变



虽然遗传漂变是无法阻止的，但可以通过科学的繁育方式和种群管理最大限度地减少或避免遗传漂变对研究带来的影响。相应措施如下：

- 维系谱系清晰的种群，养成良好的谱系记录和详细的种群信息收集习惯。
- 严密监测表型变化，一旦发现某一谱系发生突变，则及时剔除该谱系，重新建立新的谱系进行繁育。
- 在单个谱系中使用严格的姐妹-兄弟交配，并定期更新繁育对 (~10 代)。
- 避免选择压力，在同一谱系内随机挑选姐妹-兄弟进行繁育。
- 在遗传背景未知的情况下，使用基因组测序确认具体的遗传背景。
- 在种群扩繁早期，大量冷冻保存胚胎、精子，并定期复苏以更新繁育对。
- 对于持续繁育的种群，定期与背景品系回交。
- 选择定期从可靠供应商引进新的种鼠。

11.2 JAX 遗传质量控制策略

杰克森实验室在小鼠饲养、哺乳动物遗传学和检测开发领域拥有近百年的丰富经验，深刻意识到小鼠遗传稳定性对科学研究的重要意义，长期致力于保障设施中 JAX® 小鼠的遗传质量。以下是杰克森实验室为确保 JAX® 小鼠的遗传质量而开展的两项措施 — 遗传质量控制项目 (GQC) 和遗传稳定项目 (GSP)。

JAX 种群结构:

核心群 (FSs): 由纯种的姐妹 — 兄弟繁育对维持。通常每个品系仅维持一个谱系，每代只有一个繁育对；但是，对于需求量非常大的品系，有时会维持两个谱系，谱系之间不会相互配繁。我们定期复苏冷冻保存的胚胎来更新繁育对，保证每个谱系的繁育不会超过 10 代。

血缘扩大群 (PESs): 利用来自核心群的纯种姐妹-兄弟繁殖对来扩大基础种群，为生产群提供繁育对。

生产群 (PSs): 来自 PES 的繁育对及其后代 (分发给世界各地研究人员的小鼠)。生产群内部繁育不会超过 2 代。

• 遗传质量控制 (GQC) 项目:


遗传质量控制工作的核心内容是通过流程和事件的管理来防止遗传污染并最大限度地减少遗传漂变的影响。

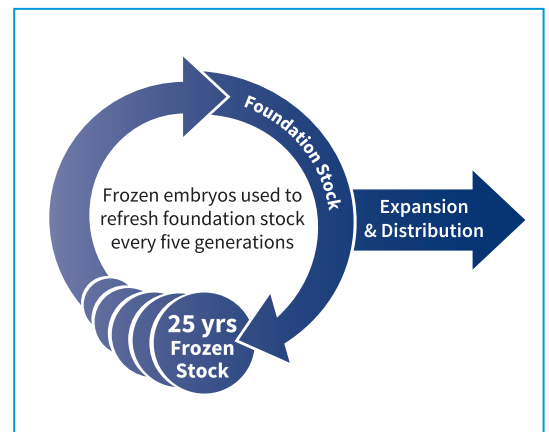
表 11.1 遗传质量控制 (GQC) 项目

内容	意义	方法
特定、严格的繁育流程	防止遗传污染并最大限度地减少遗传漂变的影响	<ul style="list-style-type: none"> • 将 FS, PES, PS 种群彼此隔离 • 根据详细的谱系编号 SOPs，保留完整的育种记录 • 严格限制 PES 的繁育代数
定期进行 SNP 基因型检测	监测遗传污染	<ul style="list-style-type: none"> • FS: 对每个新繁育对进行 SNP 基因型检测 • PES/PS: 对 PES/PS 的部分繁育对进行 SNP 基因型鉴定
管理遗传污染事件	识别并及时剔除污染种群	如果我们发现任何遗传污染，我们将尽快通知购买者，请酌情剔除种群。同时我们会重新建立种群，对新小鼠进行 SNP 检测以确保它们的遗传质量。

• 遗传稳定性 (GSP) 项目

通过冷冻保存来最大限度地减少 JAX® 小鼠核心群 (FS) 中的遗传漂变。对于该计划中的每个核心群，我们会从一代小鼠中冷冻保存足够量的胚胎，可供持续 10-25 年使用。每五代，我们会复苏冷冻的胚胎以重新建立核心群。

GSP 计划将单代的“长度”延长至 10 到 25 年，即在 100 年内，核心群传代将不超过 4-10 代。而与之相比，即使在最佳的种群管理方式下，每年自然传代也有约 3 代，100 年将产生约 300 个世代。可见，JAX 的 GSP 计划有效地将遗传漂变的速度延缓了 20-50 倍。JAX 将部分关键品系纳入了 GSP 计划，并持续定期添加其他品系。如果您在查找的小鼠品系数据中看到图标， 即表示这个品系在 GSP 计划中。



12. 小鼠健康管理 >>

实验动物的健康状况往往会直接影响研究结果，因此，JAX 致力于引领实验动物健康质量标准，并确保我们小鼠繁育种群严格执行这些标准。

12.1 JAX® 小鼠健康监测策略

JAX 健康监测实验室定期对小鼠健康进行检测，包括：

- 新引进小鼠进入繁殖种群之前，严格检测它们的健康状况。
- 严密监测小鼠繁殖种群和实验种群，防止潜伏传染疾病的爆发和传播。
- 确定小鼠品系特有疾病的流行病学数据。
- 甄别新突变和传染病问题。
- 根据需要，针对所关注的传染病原体，开发新的分子生物学和血清学检测方法。

除了定期检测以外，JAX® 小鼠健康检测还包括临床症状诊断，识别表现异常的小鼠并协助临床诊断。对出现病况的实验小鼠进行病理解剖，以系统地分析新基因突变的病理学影响。

作为提供可靠研究模型的小鼠供应商，JAX 负责为世界各地的研究人员提供始终处于良好健康状况的小鼠。我们也希望通过这些健康状况良好、遗传背景清晰可靠的小鼠模型，助力每一位科学家，共同确保科研结果的可重复性。

12.2 环境微生物监测

监测样本采集：美国 JAX 检测周期是每六周一次，监测样本来源全面多样，包括哨兵鼠、离乳后共同饲养的小鼠 (Pooled-wean animals)、淘汰的种鼠，随机的粪便取样以及免疫缺陷小鼠等。多样化且严苛的样本采集，更好地避免了假阴性的风险，也使得我们对整个动物房种群的微生物有广泛的了解。

微生物监测报告：JAX 用同样的病原体检测清单来监测所有不同等级的动物房，但各动物房根据其屏障等级和小鼠健康状况等，使用不完全相同的政策来确定必须排除的病原体 (exclusion policies)。整体来说，JAX 的微生物监测种类多于目前中国的国标 (GB14922.2-2011)。在每个品系的品系详情页上，可以下载到饲养该品系动物房的最新健康报告；而每一份健康报告中，均包含过去 12 个月的所有监测结果。

在 JAX 微生物检测报告中，根据微生物的种类分了两个大的类别：必须排除的病原微生物和根据动物房等级制定标准的机会致病菌。如果检测到某个动物房有必须排除的病原微生物，会立刻停止配送该房间正在饲养的小鼠，并通知所有使用该房间小鼠的 JAX 客户。如您计划引进 JAX® 小鼠至自己的动物饲养设施，建议仔细查看相关品系的健康报告，与自己设施的健康报告做对比，以判断您的设施是否能正常饲养该品系，尤其是对于一些免疫缺陷的小鼠；同时，鉴于不同设施的微生物管理要求不同，在引进前，也建议您与设施负责人仔细沟通，以确定动物进入设施的条件。

12.3 小鼠菌群稳定性

微生物菌群可能影响实验结论：不同来源的小鼠的微生物群落差异较大，而这个差异可能会影响实验结论——这是一个非常重要但是常常被忽略的信息。

例如，一项研究报告了 Th17 免疫细胞丰度的巨大差异。Th17 免疫细胞是小肠炎症反应的重要群体，这些细胞可能受肠道微生物群体的影响 (Ivanov 2008 Cell Host Microbe, PMID 18854238)。有研究者比较了不同来源的 C57BL/6 品系中 Th17 细胞的丰度，包括多个基础研究的实验室和商业供应商 (例如 Taconic)。结果表明，和其他来源的小鼠相比，JAX® 小鼠的 Th17 细胞非常少。后续研究明确了其中的原因，即肠道分节丝状菌 (segmented filamentous bacteria, SFB) 可以诱导 Th17 细胞发育，该发育过程在缺乏 SFB 的小鼠中受阻 (Ivanov 2009 Cell PMID 19836068)。

其实，不同机构的小鼠微生物组存在差异并不让人意外，因为每家机构在食物、水、垫料来源、设施以及操作实践 (包括健康检测) 等方面往往不尽相同。除了这些外在因素外，小鼠的内在因素也会影响微生物特征。

基于科学问题的复杂性，要提前预测哪些微生物会影响您的研究是极其困难的。因此，使用微生物组稳定的小鼠模型开展实验，确保得到稳定、可重复的实验结果，是规避此类风险最优的方式。

JAX® 小鼠具有良好的肠道微生物组稳定性：

- **JAX 不同设施之间的微生物菌群具有高度一致性：**JAX 对于饲养在两个不同设施 (Bar Harbor 和 Sacramento) 的三个品系 (BALB/c、B6J 和 NSG) 小鼠微生物检测发现，不同设施之间小鼠微生物群是高度一致的。这项观察结果还促使我们开展了一项伴随研究——我们比较了 JAX® 小鼠与市面上其他两家主要供应商的类似品系的肠道微生物组。结果发现，JAX 不同设施的 C57BL/6 小鼠的肠道微生物相似性非常高，而另外两家供应商不同设施的 C57BL/6 小鼠则有所差异。(比较数据和采样方法如图 12.3-1 所示)

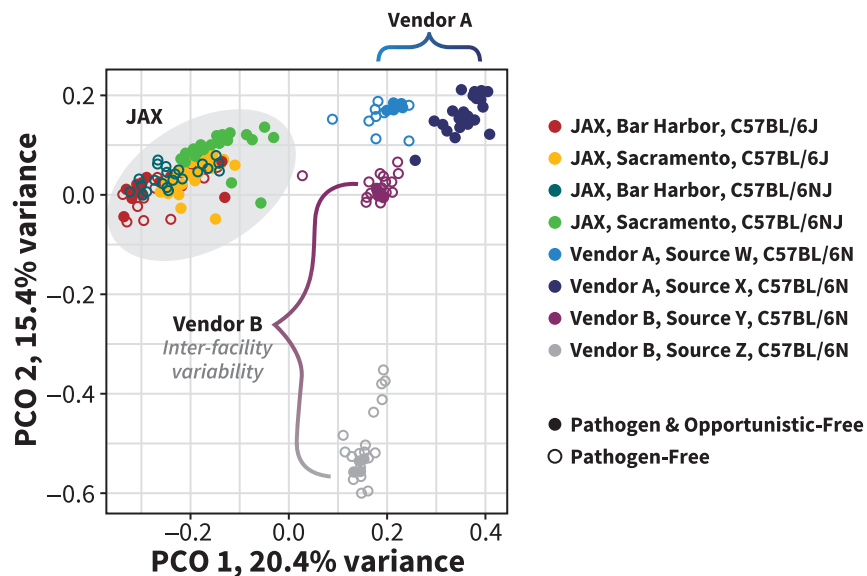


图 12.3-1: 将 JAX 不同设施 (Bar Harbor 和 Sacramento) 的 C57BL/6J, C57BL/6NJ 和市面上另外两家供应商 (A 和 B) 各两个设施 (分别是 W、X 和 Y、Z) 的 C57BL/6N 小鼠运送至专门从事微生物组研究的学术动物研究机构，采集新鲜的小鼠粪便样本进行 16S rRNA V1V3 区域的测序以比较微生物组成。

- **从时间尺度来看，JAX®小鼠的微生物菌群也保持稳定：**我们对 JAX 不同设施中的小鼠的研究发现，3 种常用小鼠品系 (BALB/c、B6J 和 NSG) 的微生物组在 5 个月内均保持稳定，且每个小鼠品系都有独特的微生物特征 (如图 12.3-2)。这很大一部分原因是基于我们严格的生物安全要求和统一的操作程序，保证您从不同设施或不同时间购买的小鼠的微生物群是一致的。如下图所示：

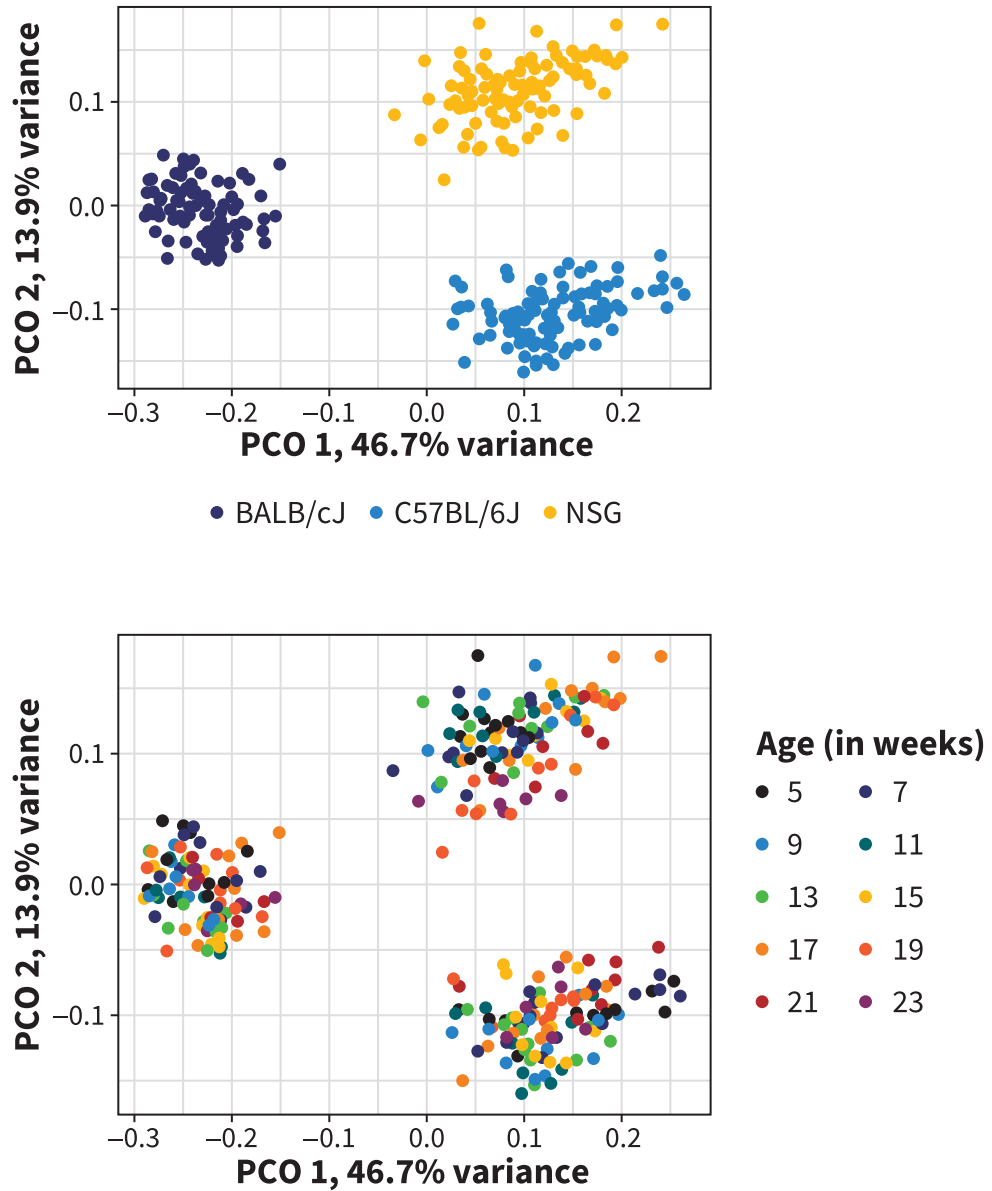


图 12.3-2: 上图，利用核糖体 16S RNA 序列特征来分析 JAX 三个小鼠品系的肠道微生物菌群分布 (BALB/cJ, C57BL/6J, NSG)，尽管不同品系小鼠之间的微生物菌群有明显差异，但是统一品系不同个体间的微生物分布是类似的。下图，间隔两周采样分析发现微生物菌群并未随时间推移而出现明显改变。

13. 小鼠种群管理要点 >>

小鼠种群管理实际上是一个相对较大的概念，它涵盖动物、设施、人员以及所有流程的管理，也包括从每天简单的工作(比如检查水瓶、更换笼盒)到复杂的项目(比如发现病原微生物污染并扑灭)。而种群管理的最终目的则是，生产并维持健康的、遗传稳定的实验动物，以更好地支持科学研究。

对于研究人员，通常不需要参与到种群管理的具体工作中去，但是了解其中的原则和可能的风险，可以帮助大家更好地与动物设施的工作人员沟通，进而保障实验。关于种群管理的大部分内容在前面的章节已经详细描述，作为本书的最后一段，我们将一些要点集中列出，以作总结：

- 提前了解待引进或饲养小鼠的品系特征、繁育特征以及所在鼠房的微生物控制情况。
- 了解所选品系的遗传背景(精确到亚系)和突变类型，理解遗传背景本身会影响表型。
- 根据研究需求和小鼠的繁育特征制定合适的繁育策略。
- 根据繁育策略建立合适的繁育种群。
- 基于小鼠特性，维持良好的饲养环境。
- 在整个饲养过程中，保持良好的记录以保证可追溯性。
- 与品系管理人源和设施工作人员保持沟通。
- 关注小鼠的遗传质量，警惕遗传漂变以及由此带来的表型差异。
- 关注小鼠的健康状况，警惕由此带来的实验结果差异。
- 对于活体状态的小鼠品系，尤其对于重要品系，需及时冻存或定期重新引种。





杰克森实验室 The Jackson Laboratory

上海市浦东新区金科路 2889 弄 3 号长泰广场 C 座 629 室

技术支持

电话：400-001-2626
邮件：micetech@jax.org.cn
网站：www.jax.org/cn

询价下单

电话：400-693-5700
邮件：orderquest@jax.org.cn
网站：jax.ibiocart.com



扫码关注官方微信