中华人民共和国国家标准

GB/T 14927.2—2001

实验动物 近交系小鼠、大鼠皮肤移植法

Laboratory animal— Genetic monitoring: skin grafting of inbred mice and rats

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施

中 华 人 民 共 和 国 _{发 布} 国家质量监督检验检疫总局

前 言

本标准是对 GB/T 14927.2—1994《实验动物 近交系小鼠、大鼠皮肤移植法》的修订,对原标准有关设备和材料及操作步骤内容做了修改。

此法是近交系小、大鼠纯度检测的经典方法,应用时间长,操作技术简单,在此次修订中没有 更多的改动。

本标准自实施之日起,代替 GB/T 14927.2—1994。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人: 邢瑞昌、刘双环、沈洁、李善如、白琴华、张瑞忠。

本标准于1994年1月首次发布。

中华人民共和国国家标准

实 验 动 物 近交系小鼠、大鼠皮肤移植法

Laboratory animal—

GB/T 14927.2—2001 代替 GB/T 14927.2—1994

Genetic monitoring: skin grafting of inbred mice and rats

1 范围

本标准规定了近交系小鼠、大鼠皮肤移植法。

本标准适用于近交系小鼠和大鼠在培育过程中纯度的检查以及近交系小鼠和大鼠在繁殖饲养过程中的遗传监测。

2 技术原理

移植的在同一近交系中可以被互相接受,即同系移植(isograft)是成功的。

移植物在不同近光系中互相排斥,亦即同种移植(allograft)是不成功的。

- F1 代动物可以接受任何一个双亲的组织移植物,双亲则不能接受 F1 代的移植物。
- F1 代动物可以接受 F2 代以后各代动物的移植物。
- 亲本品系可以接受某些 F2 代以后各代动物的移植物,但是绝大部分被排斥。
- 本标准采用背部皮肤移植法和尾部皮肤移植法。两种方法原理相同,并具有同等标准效力。

3 背部皮肤移植法

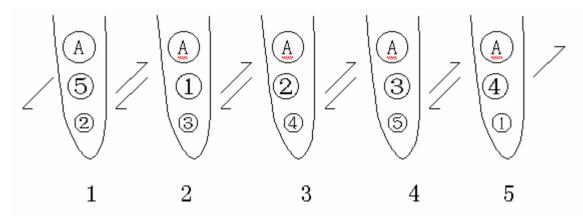
- 3.1 设备和材料
- 3.1.1 固定板 (18 cm×12 cm)。
- 3.1.2 戊巴比妥钠 (医用)。
- 3.1.3 医用橡皮膏。
- 3.1.4 医用凡士林。
- 3.1.5 粉剂青霉素 G 钠 (80 万 U, 人或兽用)。
- 3.1.6 3%碘酒棉球。
- 3.1.7 75%酒精棉球。
- 3.1.8 眼科剪刀。
- 3.1.9 眼科镊子。
- 3.1.10 注射器 (1mL)。
- 3.1.11 4号或5号注射器针头。
- 3.1.12 纱布(剪成 40mm 长,25mm 宽若干条,厚 2~3 层若干块,其上涂医用凡士林及粉剂青霉素 G 钠)。
- 3.1.13 脱脂棉做成的棉球。
- 3.1.14 将 3.1.10, 3.1.13 的材料置于高压锅内 121 ℃、40min 高压灭菌。
- 3.2 操作步骤

- 3.2.1 随机取同性别 4~12 周龄的动物 10 只,动物可来自基础群、血缘扩大群或生产群。
- 3.2.2 每只动物分别编号并称取体重,详细记录品系名称、性别、出生年月日、谱系及其他特征。
- 3.2.3 用无菌生理盐水配制 0.7%戊巴比妥钠溶液。
- 3.2.4 采用腹腔注射麻醉动物。大鼠每 20g 体重注射 0.1mL,小鼠每 10g 体重注射 0.1mL。因不同品系动物对麻醉剂敏感性不同。注射量可适当增减(手术时室温应控制在 25 ℃~28 ℃之间)。
- 3.2.5 待动物麻醉失去知觉后,将其背部朝上放在固定板上,固定动物,剪去被毛,并用 3%碘酒棉球和 75%酒精棉球消毒。
- 3.2.6 在背部剪下直径 $5 \text{ mm} \sim 10 \text{ mm}$ 的皮肤左右各一块(其中一块用做自体移植,另一块用做异体移植)。
- 3.2.7 将剪好的皮片翻转过来放入带少量生理盐水的双碟(直径 = 6cm)中,用眼科剪刀,轻轻地切去皮下组织至真皮,然后放在无菌生理盐水中冲一下。
- 3.2.8 两只动物的皮片,除左侧皮片做自体移植外,右侧皮片循环交换,逆毛方向移植并使之吻合。
- 3.2.9 覆盖涂过凡士林和青霉素 G 钠的纱布块, 3~4 层, 用 1cm 宽橡皮膏固定, 松紧适度。
- 3.2.10 手术结束待动物苏醒后,把动物放入鼠盒内,并挂上标记卡片,10d后拆除包扎。
- 3.3 结果观察
- 3.3.1 拆包后,发现皮片干瘪、脱落则为技术失败。如皮片脱痂,手术部位平整、一周后有新毛长出则为手术成功。对照自体移植,技术失败率不得大于10%。
- 3.3.2 如果皮片在 2~3 周内脱落,则为急性排斥。遗传污染通常引起急性排斥。
- 3.3.3 如果皮片在 3 周脱落,则为慢性排斥。移植物有否慢性排斥至少观察 100d,遗传突变通常引起慢性排斥。
- 3.3.4 如果对结果怀疑,则要进行生新移植,可以使用一批新的动物,也可能使用已做过移植但对结果产生怀疑的动物。如果是后者,则排斥更迅速、更典型。

4 尾部皮肤移植法

- 4.1 设备和材料
- 4.1.1 11 号手术刀柄。
- 4.1.2 11 号手术尖刀片。
- 4.1.3 玻璃套(直径8mm,大鼠可适当大些)。
- 4.1.4 其他材料见 3.1。
- 4.2 操作步骤
- 4.2.1 随机取同性别 4~12 周龄的动物 10 只,动物可来自基础群、血缘扩大群或生产群。
- 4.2.2 每只动物分别编号并称取体重,详细记录品系名称、性别、出生年月日、谱系及其他特征。
- 4.2.3 用无菌生理盐水配制 0.7%戊巴比妥钠溶液。
- **4.2.4** 采用腹腔注射麻醉动物。大鼠每 20g 体重注射 0.1mL,小鼠每 10g 体重注射 0.1mL。因不同品系动物对麻醉剂敏感性不同。注射量可适当增减(手术时室温应控制在 25 ℃~28 ℃之间)。
- **4.2.5** 待动物麻醉失去知觉后,将 5 只一组按顺序采取仰卧式放在一块滤纸上,并用 3%碘酒棉球和 75%酒精棉球消毒鼠尾。
- 4.2.6 用左手食指按住动物尾根,左手拇指按住尾尖,固定鼠尾并使其微微伸展,然后右手持解剖刀,刃面朝上,与尾部皮肤成 20°~30°夹角,在尾静脉上部或两条尾静脉之间,在离尾部 5mm 处削下一片宽约 2mm~3mm,长约 7mm~8mm 的皮肤,其厚度前者以没有严重出血,后者能足以暴露出白色的肌腱但又不割伤血管为宜。
- 4.2.7 右手将刀片逆时针方向交给左手,附着在刀片上的皮片相应转了 180°,将皮片用眼科镊子取下贴在原创面上,并尽量使其吻合,用一小片滤纸覆盖,再轻轻按压一下,然后取掉滤纸片,该移植作为自体移植对照。

- 4.2.8 按照 4.2.6 和 4.2.7 步骤,完成另 4 只动物的自体移植对照。
- 4.2.9 按照 4.2.6 和 4.2.7 步骤,参照皮肤移植相互循环系统图示,进行循环皮肤移植。亦即前边鼠的第三片皮和后边相邻鼠的第二片皮进行相互交换植皮,具体操作见图 1。



A—自体移植对照; 1, 2, 3, 4, 5—编号小鼠供体的皮片图 1 皮肤移植相互循环系统

- 4.2.10 取五支玻璃套管,分别轻轻套入动物尾巴至根部 3mm 处,用医用胶布在尾巴远端靠近套管 处将尾巴粘住,胶布往返粘贴 2~3 圈,使套管可做轻微上下活动但不脱落。
- 4.2.11 套好玻璃管后,用落地手术灯照射动物大约 15min~30min。然后将动物仰躺着放入鼠盒中挂上标记卡片。
- 4.2.12 24h 后取下套管,此时可看到皮片已粘在创面上。
- 4.3 结果观察
- 4.3.1 皮片在第一周内苍白、干瘪、脱落,则为技术失败。对照自体移植,技术失败率不得少于10%。
- 4.3.2 皮片在第 $2\sim3$ 周内发炎、水肿、坏死、结痂直至脱落,则为急性排斥。遗传污染通常引起急性排斥。
- **4.3.3** 皮片在第 3~9 周内逆毛逐渐脱落,直至无毛;或者因排斥留下凹陷疤痕,都为慢性排斥。遗传突变通常引起慢性排斥。
- 4.3.4 皮片在 100d 的观察期内,始终有逆毛,则为永久接受的标志。
- 4.3.5 如果对结果有怀疑,则要进行重新移植,以得出明确结果。