

中华人民共和国国家标准

GB 14923—2001

实验动物

哺乳类实验动物的遗传质量控制

Laboratory animal—Genetic quality control
of mammalian laboratory animals

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准由 1994 年发布的国家标准 GB 14923—1994《实验动物 哺乳类动物的遗传质量控制》修订而成。修订中,主要是依据《国际小鼠遗传标准命名委员会》1996 年发布的《近交系小鼠命名规则》,对原标准中《遗传分类及命名原则》部分内容进行了增减:删去了原标准中关于近交系支系部分的内容,增加了重组同类系的内容,与国际上最新版本的权威文件一致。另外,考虑到转基因动物的培育及使用在实验动物及相关领域日益广泛,目前还没有一个国际上的权威机构制定发布相关标准及文件,美国国家研究委员会组织权威专家成立了《转基因动物标准命名委员会》,并于 1992 年制定发布了《转基因动物标准命名》的文件,在美国和各发达国家普遍接受和执行这一文件中的主要原则。本次修订中等效采用美国 1992 年发布的《转基因动物标准命名》规则,增加了有关转基因动物分类及命名的内容。

本标准与 GB/T 14927.1—2001《实验动物 近交系小鼠、大鼠生化标记检测法》、GB/T 14927.2—2001《实验动物 近交系小鼠、大鼠皮肤移植法》共同组成实验动物遗传质量控制标准系列,前者为质量标准,后者属具体检测方法。

本标准附录 A、附录 B 都是标准的附录。

本标准自实施日起代替 GB 14923—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、刘一农、李善如、徐平、白琴华。

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 哺乳类实验动物的遗传质量控制

GB 14923 2001

代替 GB 14923 1994

Laboratory animal—Genetic quality control
of mammalian laboratory animals

1 范围

本标准规定了哺乳类实验动物的遗传分类及命名原则、繁殖交配方法和近交系动物的遗传质量标准。

本标准适用于哺乳类实验动物的遗传分类、命名、繁殖及近交系小鼠、大鼠的遗传纯度检测。

2 实验动物的遗传分类及命名

根据遗传特点的不同,实验动物分为近交系、封闭群和杂交群。

2.1 近交系 inbred strain

2.1.1 定义

近交系:经至少连续 20 代的全同胞兄妹交配培育而成,品系内所有个体都可追溯到起源于第 20 代或以后代数的一对共同祖先。

经连续 20 代以上亲代与子代交配与全同胞兄妹交配有等同效果。

近交系的近交系数(inbreeding coefficient)应大于 99%。

2.1.2 命名

近交系一般以大写英文字母命名,亦可以用大写英文字母加阿拉伯数字命名,符号应尽量简短。如 A 系、TAI 系等。

2.1.3 近交代数

近交系的近交代数用大写英文字母 F 表示。例如当一个近交系的近交代数为 87 代时,写成(F87)。

2.1.4 亚系 substrain

2.1.4.1 亚系的形成

近交系的亚系分化是指一个近交系内各个分支的动物之间,已经发现或十分可能存在遗传差异。通常下述三种情况会发生亚系分化。

a) 在兄妹交配代数达 40 代以前形成的分支(即分支发生于 F20 到 F40 之间);

b) 一个分支与其他分支分开繁殖超过 100 代;

c) 已发现一个分支与其他分支存在遗传差异。产生这种差异的原因可能是残留杂合、突变或遗传污染(genetic contamination)(即一个近交系与非本品系动物之间杂交引起遗传改变)。由于遗传污染形成的亚系,通常与原品系之间遗传差异较大,因此对这样形成的亚系应重新命名。例如由 G1axo 保持的 A 近交系在发生遗传污染后,重新命名为 A2G。

2.1.4.2 亚系的命名

亚系的命名方法是在原品系的名称后加一道斜线,斜线后标明亚系的符号。

亚系的符号可以是以下三种：

a) 数字,如 DBA/1、DBA/2 等。

b) 培育或产生亚系的单位或人的缩写英文名称,第一个字母用大写,以后的字母用小写。使用缩写英文名称应注意不要和已公布过的名称重复。例如:A/He,表示 A 近交系的 Heston 亚系;CBA/J,表示由美国杰克逊研究所保持的 CBA 近交系的亚系。

c) 当一个保持者保持的一个近交系具有两个以上的亚系时,可在数字后再加保持者的缩写英文名称来表示亚系。如:C57BL/6J,C57BL/10J 分别表示由美国杰克逊研究所保持的 C57BL 近交系的两个亚系。

d) 作为以上命名方法的例外情况是一些建立及命名较早,并为人们所熟知的近交系,亚系名称可用小写英文字母表示,如 BALB/c、C57BR/cd 等。

2.1.5 重组近交系(recombinant inbred strain)和重组同类系(recombinant congenic strain)

2.1.5.1 定义

a) 重组近交系(RI):由两个近交系杂交后,经连续 20 代以上兄妹交配育成的近交系。

b) 重组同类系(RC):由两个近交系杂交后,子代与两个亲代近交系中的一个近交系进行数次回交(通常回交 2 次),再经无对特殊基因选择的近亲交配而育成的近交系。

2.1.5.2 命名

a) 重组近交系的命名

由两个亲代近交系的缩写名称中间加大写英文字母 X 命名。由相同双亲交配育成的一组近交系用阿拉伯数字予以区分。

例如:由 BALB/c 与 C57BL 两个近交系杂交育成的一组重组近交系,分别命名为 CXB1、CXB2
.....

对常用近交系小鼠的缩写名称规定如下:

近交系	缩写名称
C57BL/6	B6
BALB/c	C
DBA/2	D2
C3H	C3
CBA	CB

b) 重组同类系的命名

由两个亲代近交系的缩写名称中间加小写英文字母 c 命名,用其中做回交的亲代近交系(称受体近交系)在前,供体近交系在后。由相同双亲育成的一组重组同类系阿拉伯数字予以区分。如 CcS1,表示由以 BALB/c(C)为亲代受体近交系,以 STS(S)品系为供体近交系,经 2 代回交育成的编号为 1 的重组同类系。

2.1.6 同源突变近交系 coisogenic inbred strain

2.1.6.1 定义

同源突变近交系:两个近交系,除了在一个指明位点等位基因不同外,其他遗传基因全部相同,简称同源突变系。

同源突变系一般皆由近交系发生基因突变而形成。

2.1.6.2 命名

由发生突变的近交系名称后加突变基因符号(用英文斜体印刷体)组成,二者之间以连接号分开,如:DBA/Ha *D*。

当突变基因必须以杂合子形式保持时,用“+”号代表野生型基因,如:A/Fa-+/c。

2.1.7 同源导入近交系(同类近交系) congenic inbred strain

2.1.7.1 定义

同源导入近交系:通过杂交-互交(cross-intercross)或回交(backcross)等方式将一个基因导入到近交系中,由此形成的一个新的近交系与原来的近交系只是在一个很小的染色体片段上的基因不同,称为同源导入近交系(同类近交系),简称同源导入系(同类系)。

2.1.7.2 命名

同源导入系名称由以下三部分组成:

- a) 接受导入基因的近交系名称;
- b) 提供导入基因的近交系的缩写名称,并与 a 项之间用英文句号分开;
- c) 导入基因的符号(用英文斜体),与 b 项之间以连字符分开。

例如: B10.129-*H*-12*b*

表示该同源导入近交系的遗传背景为 C57BL/10sn(=B10),导入 B10 的基因为 *H*-12*b*,基因提供者 129/J 近交系。

2.1.8 转基因动物 transgenic animals

2.1.8.1 定义

转基因动物:通过实验手段将新的遗传物质导入到动物胚细胞中,并能稳定遗传,由此获得的动物称为转基因动物。

2.1.8.2 转基因动物命名:

转基因的命名遵循以下原则:

符号:一个转基因符号由以下三部分组成,均以罗马字体表示:

TgX (YYYYYY)#####Zzz,

其中各部分符号表示含意为:

TgX=方式(mode)

(YYYYYY)=插入片段标示(insert designation)

= 实验室指定序号(laboratory-assigned number)及

Zzz=实验室注册代号(laboratory code)

以上各部分具体含意及表示如下:

a) 方式

转基因符号通常冠以 Tg 字头,代表转基因(transgene)。随后的一个字母(X)表示 DNA 插入的方式:H 代表同源重组,R 代表经过逆转录病毒载体感染的插入,N 代表非同源插入。

b) 插入片段标示

插入片段标示是由研究者确定的表明插入基因显著特征的符号。通常由放在圆括号内的字符组成:可以是字母(大写或小写),也可由字母与数字组合而成,不用斜体字,上、下标、空格及标点等符号。研究者在确定插入标示时,应注意以下几点:

标示应简短,一般不超过六个字符。

如果插入序列源于已经命名的基因,应尽量在插入标示中使用基因的标准命名或缩写,但基因符号中的连字符应省去。

确定插入片段指示时,推荐使用一些标准的命名缩写,目前包括:

An	匿名序列
Ge	基因组
Im	插入突变
Nc	非编码序列
Rp	报告基因
Sn	合成序列

Et	增强子捕获装置
Pt	启动子捕获装置

插入片断标示只表示插入的序列,并不表明其插入的位置或表型。

c) 实验室指定序号及实验室注册代号

实验室指定序号是由实验室对已成功的转基因系给予的特定编号,最多不超过 5 位数字。而且,插入片断标示的字符与实验室指定序号的数字位数之和不能超过 11。

实验室注册代号是对从事转基因动物研究生产的实验室给予的特定符号。

举例:

C57BL/6J-TgN(CD8Ge) 23Jwg

来源于美国杰克逊研究所(J)的 C57BL/6 品系小鼠被转入人的 CD8 基因组(Ge);转基因在 Jon W. Gordon(Jwg)实验室完成,获取于一系列显微注射后得到的序号为 23 的小鼠。

TgN(GPDHIm) 1 Bir

以人的甘油磷酸脱氢酶基因(GPDH)插入(C57BL/6J X SJL/J) F1 代雌鼠的受精卵中,并引起插入突变(Im),这是 Edward H. Birkenmeier(Bir)实验室命名的第一只转基因小鼠。

根据转基因动物命名的原则,如果转基因动物的遗传背景是由不同的近交系或远交群之间混合而成时,则该转基因符号应不使用动物品系或种群的名称。

转基因符号的缩写:转基因符号可以缩写,即去掉插入片断标示部分,例如 TgN(GPDHIm)1 Bir 可缩写为 TgN 1 Bir。一般在文章中第一次出现时使用全称,以后再出现时可使用缩写名称。

2.2 封闭群(远交群) closed colony or outbred stock

2.2.1 定义

封闭群:以非近亲交配方式进行繁殖生产的一个实验动物种群,在不从其外部引入新个体的条件下,至少连续繁殖 4 代以上,封闭群亦称远交群。

2.2.2 命名

封闭群由 2~4 个大写英文字母命名,种群名称前标明保持者的英文缩写名称,第一个字母须大写,后面的字母小写,一般不超过 4 个字母。保持者与种群名称之间用冒号分开。

例如:N:NIH 表示由美国国立卫生研究院(N)保持的 NIH 封闭群小鼠。

Lac:LACA 表示由英国实验动物中心(Lac)保持的 LACA 封闭群小鼠。

某些命名较早,又广为人知的封闭群动物,名称与上述规则不一致时,仍可沿用其原来的名称。如:Wistar 大鼠封闭群,日本的 ddy 封闭群小鼠等。

把保持者的缩写名称放在种群名称的前面,而二者之间用冒号分开,是封闭群动物与近交系命名中最显著的区别。除此之外,近交系命名中的规则及符号也适用于封闭群动物的命名。

2.3 杂交群 hybrids

2.3.1 定义

杂交群:由不同品系或种群之间杂交产生的后代。

2.3.2 命名

杂交群应按以下方式命名:此雌性亲代名称在前,雄性亲代名称居后,二者之间以大写英文字母“X”相连表示杂交。将以上部分用括号括起,再在其后标明杂交的代数(如 F1、F2 等)。

对品系或种群的名称可使用通用的缩写名称。

例如:(C57BL/6 X DBA/2)F1=B6D2F1

(NMRI X LAC)F2

3 实验动物的繁殖方法

由于近交系与封闭群动物具有不同的遗传特点,因此应分别选择相应的繁殖方法。

3.1 近交系动物的繁殖方法

选择近交系动物繁殖方法的原则是保持近交系动物的同基因性及其基因纯合性。

3.1.1 引种

作为繁殖用原种的近交系动物必须遗传背景明确,来源清楚,有较完整的资料(包括品系名称、近交代数、遗传基因特点及主要生物学特征等)。引种动物应来自近交系的基础群(foundation stock)。

3.1.2 近交系动物的繁殖可分为基础群(foundation stock)、血缘扩大群(pedigree expansion stock)和生产群(production stock)。当近交系动物生产供应数量不是很大时,一般不设血缘扩大群,仅设基础群和生产群。

3.1.2.1 基础群

设基础群的目的,一是保持近交系自身的传代繁衍,二是为扩大繁殖提供种动物。

a) 基础群严格以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。

b) 基础群应设动物个体记录卡(包括品系名称、近交代数、动物编号、出生日期、双亲编号、离乳日期、交配日期、生育记录等)和繁殖系谱。

c) 基础群(包括血缘扩大群)动物不超过5~7代都应能追溯到一对共同祖先。

3.1.2.2 血缘扩大群

血缘扩大群的种动物来自基础群。

a) 血缘扩大群以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。

b) 血缘扩大群动物应设个体繁殖记录卡。

c) 血缘扩大群动物不超过5~7代都应能追溯到其在基础群的一对共同祖先。

3.1.2.3 生产群

设生产群的目的是生产供应实验用近交系动物,生产群种动物来自基础群或血缘扩大群。

a) 生产群动物一般以随机交配方式进行繁殖;

b) 生产群动物应设繁殖记录卡;

c) 生产群动物随机交配繁殖代数一般不应超过4代。

3.2 封闭群动物的繁殖方法

选择封闭群动物繁殖方法的原则是尽量保持封闭群的动物的基因异质性及多态性,避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升。

3.2.1 引种

作为繁殖用原种的封闭群动物必须遗传背景明确,来源清楚,有较完整的资料(包括种群名称、来源、遗传基因特点及主要生物学特性等)。

为保持封闭群动物的遗传异质性及基因多态性,引种动物数量要足够多,小型啮齿类封闭群动物引种数目一般不能少于25对。

3.2.2 繁殖

为保持封闭群动物的遗传基因的稳定,封闭群应足够大,并尽量避免近亲交配。根据封闭群的大小,选用循环交配法等方法进行繁殖。具体方法如附录A(标准的附录)。

4 近交系动物的遗传质量监测

4.1 近交系动物的遗传质量标准

近交系动物必须符合以下要求:

4.1.1 具有明确的品系背景资料,包括品系名称、近交代数、遗传组成、主要生物学特性等,并能充分表明新培育的或引种的近交系动物符合近交系定义的规定。

4.1.2 用于近交系保种及生产的繁殖系谱及记录卡应清楚完整,繁殖方法科学合理。

4.1.3 经遗传检测(生化标记基因检测法,皮肤移植法,免疫标记基因检测法等)质量合格。

4.2 近交系小鼠、大鼠遗传检测方法及实施

4.2.1 生化标记基因检测 biochemical markers

本方法是近交系动物遗传纯度常规检测中的常规方法。

4.2.1.1 抽样

对基础群,凡在子代留有种鼠的双亲动物都应进行检测。

对生产群,按表 1 要求从每个近交系中随机抽取成年动物,雌雄各半。

表 1

生产群中雌性种鼠数量	抽样数目
100 只以下	6 只
100 只以上	≥6%

4.2.1.2 生化标记基因的选择及常用近交系动物的生化遗传概貌

近交系小鼠选择位于 10 个染色体上的 13 个生化位点,近交系大鼠选择 9 个生化位点,作为遗传检测的生化标记。以上生化标记基因的名称及常用近交系动物的生化标记遗传概貌见附录 B(标准的附录)。

4.2.1.3 结果判断,见表 2。

表 2

检测结果	判 断	处 理
与标准遗传概貌完全一致	未发现遗传变异,遗传质量合格	
有一个位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	可疑	增加检测位点数目和增加检测方法后重检,确实只有一个标记基因改变可命名为同源突变系
两个或两个以上位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	不合格	淘汰,重新引种

4.2.2 皮肤移植法 skin grafting

每个品系随机抽取至少 4 只相同性别的成年动物,进行同系异体皮肤移植。移植全部成功者为合格,发生非手术原因引起的移植物的排斥判为不合格。

4.3 除以上两种方法外,还可选用其他方法对近交系动物进行遗传质量检测,如毛色基因测试(coat color gene testing)、免疫标记基因检测(immunogenetic markers)、下颌骨测量法(mandible measurement)、染色体标记检测(cytogenetic techniques)、DNA 多态性检测法(DNA markers)等。

4.4 检测时间间隔

近交系动物生产群每年至少进行一次遗传质量检测。

附 录 A
(标准的附录)
实验动物封闭群的繁殖方法

A1 基本要求

保持封闭群条件、无选择、以非近亲交配方式进行繁殖,每代近交系数上升不超过百分之一。

A2 方法的选择

封闭群的种群大小、选种方法及交配方法是影响封闭群的繁殖过程中近交系数上升的主要因素,应根据种群的大小,选择适宜的繁殖交配方法。

A2.1 当封闭群中每代交配的雄种动物数目为 10~25 只时,一般采用最佳避免近交法,也可采用循环交配法。

A2.2 当封闭群中每代交配的雄种动物数目为 26~100 只时,一般采用循环交配法,也可采用最佳避免近交法。

A2.3 当封闭群中每代交配的雄种动物数目多于 100 只时,一般采用随选交配法,也可采用循环交配法。

A3 交配方法

A3.1 最佳避免近交法 maximum avoidance of inbreeding system

A3.1.1 留种

每只雄种动物和每只雌种动物,分别从子代各留一只雄性动物和雌性动物,作为繁殖下一代的种动物。

A3.1.2 交配

动物交配时,尽量使亲缘关系较近的动物不配对繁殖,编排方法尽量简单易行。

a) 对某些动物品种,如小鼠,大鼠等,生殖周期较短,易于集中安排交配,可按下述方法编排配对进行繁殖:假设一个封闭群有 16 对种动物,分别标以笼号 1、2、3、……、16。设 n 为繁殖代数(n 为自 1 开始的自然数)。 n 代所生动物与 $n+1$ 代交配编排见表 A1。

表 A1 最佳避免近交法的交配编排

$n+1$ 代笼号	雌种来自 n 代笼号	雄种来自 n 代笼号
1	1	2
2	3	4
3	5	6
:	:	:
:	:	:
8	15	16
9	2	1
10	4	3
:	:	:
:	:	:
16	16	15

b) 某些动物品种:如狗、猫、家兔等,生殖周期较长,难于按上述方式编排交配。只要保持种群规模不低于10只雄种,20只雌种的水平,留种时每只雌、雄种各留一只子代雌、雄动物作种,交配时尽量避免近亲交配,则可以把繁殖中每代近交系数的上升控制在较低的程度。

A3.2 循环交配法 rotational mating system

A3.2.1 应用范围

循环交配法广泛适用于中等规模以上的实验动物封闭群。其优点一是可以避免近亲交配,二是可以保证种动物对整个封闭群有比较广泛的代表性。

A3.2.2 实施办法

a) 将封闭群划分成若干个组,每组包含有多个繁殖单位(一雄一雌单位,一雄二雌单位,一雄多雌单位等)。

b) 安排各组之间以系统方法进行交配。

举例说明如下:

例1:一封闭群每代有48笼繁殖用种动物(一雄种一雌种,或一雄种多雌种)。先将其分成8个组,每组有6笼。各组内随机选留一定数量的种动物,然后在各组之间按表2中的排列方法进行交配。

表 A2 循环交配法组间交配编排

新组编号	雄种动物原组编号	雌种动物原组编号
1	1	2
2	3	4
3	5	6
4	7	8
5	2	1
6	4	3
7	6	5
8	8	7

A3.3 随选交配法 chance mating system

A3.3.1 应用范围

当封闭群的动物数量非常多(繁殖种动物在100个繁殖单位以上),不易用循环交配法进行繁殖时,可用随选交配法。

A3.3.2 实施办法

从整个种群中随机选取种动物,然后任选雌雄种动物交配繁殖。

附 录 B

(标准的附录)

常用近交系小鼠、大鼠的生化标记基因

B1 常用近交系小鼠的生化标记基因

见表 B1。

表 B1 常用近交系小鼠的生化标记基因

生化标记			主要近交系小鼠的标记基因				
生化位点	染色体	中文名称	A	AKR	C3H/He	C57BL/6	CBA/N
<i>Akp1</i>	1	碱性磷酸酶-1	b	b	b	a	a
<i>Car2</i>	3	碳酸酐酶-2	b	a	b	a	a
<i>Ce2</i>	17	过氧化氢酶-2	a	b	b	a	b
<i>Es1</i>	8	酯酶-1	b	b	b	a	b
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	c	c	c	a	c
<i>Es10</i>	14	酯酶-10	a	b	b	a	b
<i>Gpd1</i>	4	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1	b	b	b	a	b
<i>Gpi1</i>	7	葡萄糖磷酸异构酶-1	a	a	b	b	b
<i>Hbb</i>	7	血红蛋白 β 链	d	d	d	s	d
<i>Idh1</i>	1	异柠檬酸脱氢酶-1	a	b	a	a	b
<i>Mod1</i>	9	苹果酸酶-1	a	b	a	b	b
<i>Pgm1</i>	5	磷酸葡萄糖变位酶-1	a	a	b	a	b
<i>Trf</i>	9	转铁蛋白	b	b	b	b	a

生化标记			主要近交系小鼠的标记基因					
生化位点	染色体	中文名称	BALB/c	DBA/1	DBA/2	TA1	TA2	615
<i>Akp1</i>	1	碱性磷酸酶-1	b	a	a	b	b	a
<i>Car2</i>	3	碳酸酐酶-2	b	a	b	b	a	a
<i>Ce2</i>	17	过氧化氢酶-2	a	b	b	a	b	b
<i>Es1</i>	8	酯酶-1	b	b	b	a	b	b
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	a	c	c	a	c	c
<i>Es10</i>	14	酯酶-10	a	b	b	b	a	a
<i>Gpd1</i>	4	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1	b	a	b	b	b	b
<i>Gpi1</i>	7	葡萄糖磷酸异构酶-1	a	a	a	a	b	a
<i>Hbb</i>	7	血红蛋白 β 链	d	d	d	s	d	s
<i>Idh1</i>	1	异柠檬酸脱氢酶-1	a	b	b	a	a	a
<i>Mod1</i>	9	苹果酸酶-1	a	a	a	a	b	b
<i>Pgm1</i>	5	磷酸葡萄糖变位酶-1	a	b	b	a	b	b
<i>Trf</i>	9	转铁蛋白	b	b	b	b	b	b

B2 常用近交系大鼠的生化标记基因

见表 B2。

表 B2 常用近交系大鼠的生化标记基因

生化标记		主要近交系大鼠的标记基因					
生化位点	中文名称	ACI	F344	LEW/M	LOU/C	SHR	WKY
<i>Akp1</i>	碱性磷酸酶-1	b	a	a	a	a	b
<i>Cs1</i>	过氧化氢酶	a	a	a	a	b	b
<i>Es1</i>	酯酶-1	b	a	a	a	a	a
<i>Es3</i>	酯酶-3	a	a	d	a	b	d
<i>Es4</i>	酯酶-4	b	b	b	b	a	b
<i>Es6</i>	酯酶-6	b	a	a	b	a	a
<i>Es8</i>	酯酶-8	b	b	b	b	b	a
<i>Es9</i>	酯酶-9	a	a	c	a	a	c
<i>Es10</i>	酯酶-10	a	a	b	a	a	b