

李长龙,陈振文. 实验动物专业技术培训和教学中强化遗传质量控制意识[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(4): 111 - 113,119.

Li CL, Chen ZW. Enhancing the awareness of genetic quality control of laboratory animals in technical training and teaching[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(4): 111 - 113,119.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.04.020

# 实验动物专业技术培训和教学中强化遗传质量控制意识

李长龙,陈振文\*

(首都医科大学基础医学院,北京 100069)

【摘要】 实验动物遗传质量控制对实验动物生产和科学研究及生物医药产业有重要的影响,应该受到高度重视,但在实际工作中由于动物遗传质量问题发生滞后性和具隐蔽性等原因,使得实验动物的遗传质量问题长期存在。实验动物专业人员是未来动物实验的执行人、监督者和管理者。本文结合实验动物管理和应用动物进行科学研究的实际工作经验,从实验动物生产和动物实验过程中可能出现的遗传质量问题出发,在对实验动物专业技术人员培训和医学生实验动物教学中,分析问题可能的原因,提出了相应的解决办法和建议。通过教育和培训过程中的理论和实例的阐述,强化了专业技术人员和医学实验工作者对实验动物遗传质量控制重要性的认识,旨在保证实验动物的遗传质量,提高动物实验的真是性和准确性。本文也可为非专业技术人员处理实验动物遗传质量问题提供参考。

【关键词】 实验动物;遗传质量控制;教育教学

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2019) 04-0111-03

## Enhancing the awareness of genetic quality control of laboratory animals in technical training and teaching

LI Changlong, CHEN Zhenwen\*

(School of Basic Medical Science, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

【Abstract】 Genetic quality control of laboratory animals is important for laboratory animal production, scientific research, and the biomedical industry. However, problems with the genetic quality of laboratory animals have continued for a long time, because it has hysteresis and concealment. The major professional groups working with laboratory animals are animal experimenters, supervisors, and administrators. Based on the possible problems with genetic quality in the production of and experiments on laboratory animals, combined with practical experience of animal management and animal experiments for scientific research, this paper analyzes the possible causes of these problems, and provides advice and solutions for these to be applied, during the training of professionals and the teaching of medical students. Through education, theoretical explanations, and examples in the training and teaching processes, as well as strengthening the understanding of the importance of genetic quality control among professionals, the aim is to guarantee the genetic quality of laboratory animals and improve the authenticity and accuracy of animal experiments. This paper also provides a reference for non-technical personnel to discover, analyze and solve the genetic quality of experimental animals.

【Keywords】 laboratory animal; genetic quality control; education and teaching

【基金项目】北京市重点专项课题(D181100000518002);国家自然科学基金(31572348, 31572341, 31772545)。

【作者简介】李长龙(1976—),男,博士,副教授,副研究员,研究方向:实验动物遗传发育。E-mail: li-changlong@126.com

【通信作者】陈振文(1959—),男,博士,教授,研究方向:实验动物资源开发及遗传与发育。E-mail: czwen@ccmu.edu.cn

实验动物是一类人为控制繁殖方式并具有特殊遗传组成的动物群体,一般分为同基因型(近交系)和异基因型(封闭群)动物。近交系动物是经连续 20 代(或以上)的全同胞兄妹交配(或亲代与子代交配)培育而成,近交系数大于 99%,基因纯合度达 98.6% 以上。同一品系的动物由于始于共同祖先,具有基因型和表型的一致性,因而主要的生物学特性相同,个体间近于无差异,对实验反应也趋于一致,因此,只需用少量的动物,即可得到非常规律的实验结果。而封闭群动物则是以非近亲交配方式进行繁殖生产的实验动物种群,要求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。这使得封闭群动物的遗传组成具有一定的杂合性和稳定性,它类似于人类群体遗传组成的异质性,在人类遗传研究、药物筛选和毒性试验等方面有重要作用。显而易见,在近交系动物生产和实验应用中就十分重视动物的均一性,而封闭群动物个体间则强调其多样性。但在实际工作中,由于多种原因可以导致动物的遗传基因或基因频率的改变,使同一品种品系的动物与原始品种品系出现了明显的遗传差异,个体间的均一性大大降低。遗传质量问题主要发生在实验动物生产过程中,不但影响实验动物的生产,还对研究结果的真实性、稳定性和重复性产生极大影响。因此,如何发现和处理实验动物遗传质量问题就显得十分重要。

本课题组前期研究中利用 N-甲基亚硝基脲(MNU)诱导 4 家公司购买的 C57BL/6 J 小鼠建立胸腺淋巴瘤模型。尽管所用 MNU 的剂量和给药方法均参照了多数国外文献报道<sup>[1]</sup>,但 4 批 C57BL/6 J 小鼠的实验结果却差异极大,死亡率在 3.3%~91.7% 不等,胸腺淋巴瘤模型成功率 0~56.6% (表 1)。应用 42 个微卫星位点对上述群体动物进行遗传检测发现动物在群体间和群体内均有微卫星 DNA 位点多态现出现,表明群体存在遗传质量问题<sup>[2]</sup>。

实验动物专业技术人员和医学生是未来动物实验的执行人、管理者和监督者,在培训和教学过

程中强化遗传质量控制意识非常重要。本文结合实验动物管理和应用动物进行科学研究的实际工作经验,就如何发现、分析和处理实验动物遗传质量事件,强化相关人员的实验动物遗传质量控制意识,保证实验动物的遗传质量,提高动物实验的真是性和准确性。

1 动物实验中实验动物遗传质量问题的发现与处理

1.1 动物实验中常见的实验动物遗传质量问题

实验动物遗传质量是影响研究结果的关键因素之一,但是由于实验动物遗传质量问题具有滞后性和隐蔽性,加之多数科研人员对此重视程度不够或没有意识到,使得遗传质量对动物实验结果产生的影响往往被低估。尽管如此,实验动物遗传质量问题仍常见于报道之中。学者认为,实验动物遗传组成不同是很多生物学和医药相关实验结果差异大或无法重复的主要原因<sup>[3]</sup>。科学研究中由于应用的实验动物遗传质量不好而出现的常见问题主要表现为动物对同样的实验处理反应不一致,实验结果差异很大,实验结果缺乏真实性、无法重复,甚至出现违背常理现象<sup>[4]</sup>。

1.2 动物实验中实验动物遗传质量问题的处理方法

在动物实验中出现异常或实验结束后结果差异较大时,在排除其他影响因素的情况下,应考虑是否存在实验动物遗传质量问题。如果发现个别动物出现遗传质量问题时,可以考虑淘汰有问题的动物,重新补充新的动物进行实验。当出现有较多动物遗传质量问题时,须淘汰所有动物,从其他生产单位重新购入动物进行实验。考虑到样本和时间因素,最好先从小样本预实验开始,之后再扩大样本。当怀疑实验动物存在遗传质量问题时,可以活体采取少量组织(尾或血液)提取基因组 DNA,用微卫星或 SNP 位点进行检测,通过分析结果判定是否存在遗传质量问题而采取相应的措施。

表 1 不同群体小鼠模型制作结果比较

Table 1 Comparison of the results of different mouse model groups

供应商 Company	动物总数 Total number of animals	动物死亡数 Number of dead animals	动物存活数 Number of live animals	淋巴瘤模型 Number of Lymphoma model
1	60	55(91.7%)	5	4(6.7%)
2	20	13(65%)	7	5(25%)
3	76	15(19.7)	61	43(56.6%)
4	60	2(3.3%)	58	0(0%)

### 1.3 动物实验中遗传质量控制注意事项

动物实验前应首先了解动物生产供应单位情况,选择管理规范、注重质量、信誉良好并且在同类实验研究应用较多的单位采购。也可以通过向做过同类实验的同行进行咨询。了解生产供应单位最近一次遗传检测时间和结果,要求生产供应单位提供遗传质量检测报告。动物购入后应检查动物外观,包括毛色、体型、采食量和饮水量是否一致,不合格动物不能编入实验组。

## 2 实验动物生产中动物遗传质量问题的发现与处理

### 2.1 实验动物生产中常见的动物遗传质量问题表现

实验动物遗传质量改变有的并不表现出可见的表性特征,需要进行特殊的实验室检查才能发现。但多数情况下通过细心观察或多代繁殖后会显现出可见或可感知的异常变化。一般可观察到的与遗传质量有关的变化如下几个方面,在外部表型特征方面(包括:毛色、眼睛、尾巴、乳头数、生殖器、牙齿、耳和四肢等)、繁殖特性(包括:妊娠率、产子数、胎间隔、离乳率、食仔、拒绝哺乳、死胎或畸形等)、生长发育特性(包括:初生重、离乳重、体长、尾长等)以及生理生化等指标等。对于外部特征没有显著变化的遗传质量改变,只能通过定期的遗传质量检测才能发现。

### 2.2 实验动物生产中遗传质量问题产生的可能原因分析

近交系动物遗传质量问题通常有以下原因。首先,种源问题。目前应用的近交系实验动物品系大多来源于国外,国内实验动物饲养机构原则上从国家实验动物种子中心引种后进行繁育,多数单位自行保种繁殖。如果种子动物遗传质量出现了问题而未被发觉,将会导致生产的动物遗传质量出现问题。第二,繁殖方式问题。近交系动物的核心种群必须采用全同胞近亲繁殖,在生产群体中则可采用随机交配的方式进行,但限于繁殖 4 代之后全部淘汰,不得留种。如果生产群随机交配超过 4 个世代,动物遗传质量出现问题的概率将大大增加。第三,遗传污染。很多近交系动物在外部形态特征上很难区分,如果饲养管理稍有疏忽将可能导致不同近交系动物杂交,进而出现遗传质量问题。此外,杂合基因显现、基因突变、保种时间过长等原因也能引起近交系动物遗传质量问题。

封闭群动物遗传质量问题的原因主要有以下几个方面。首先,封闭群动物种群规模过小导致近交系上升过快(每代超过 1%),群体出现近亲繁殖而导致近交衰退。第二,繁殖方式不合理。由于繁殖方式不合理(非随机交配或循环交配)导致近亲繁殖,从而出现动物遗传质量下降。第三,引种不规范。一般小型啮齿类动物引种有效规模不小于 25 对,如果引种规模过小则导致近交系数过快上升,易于出现近亲繁殖现象。此外,外部动物种群进入、选种指标不完善、选择压力过大、生产记录管理混乱等也是出现遗传质量问题的重要因素。

### 2.3 实验动物生产中动物遗传质量问题的处理方法

当仅有个别动出现遗传质量问题时,对无培育和应用价值的异常动物进行淘汰。如果出现遗传质量问题的动物具有培育和应用价值,如有某种疾病表型,则应找到同窝(最好有相同表型)动物或亲代进行繁殖,观察其是否具有遗传性,固定其表型,进而建立新的模型动物种群。当多数动物出现遗传质量问题时,则应首先对有问题动物进行抽样检测。针对近交系群体主要进行一致性检测,明确遗传质量问题。对个别动物出现多态性差异,应对其亲代动物进行检测,确认后淘汰这一支的所有动物。较多动物出现不均匀的改变时,淘汰种群,重新引种。对于封闭群动物主要进行均匀性检测以确定群体内是否处于平衡状态,与原群体是否存在差异。如有较大差异,查找原因,是否有新的动物引入,是否种群过小。对问题较多的种群要进行淘汰,重新引种并封闭繁育 4 代以上。

### 2.4 实验动物生产中控制动物遗传质量应注意事项

遗传质量控制贯穿于实验动物生产的各个环节,引种、繁育、保种和生产中均应严格控制。首先,要从国家正规的实验动物种子中心引种,种用动物要具有明确的品种品系背景资料、遗传组成、遗传检测报告及主要生物学特性等。第二,饲养人员要经过严格的标准化管理和操作培训,考核合格后方可上岗;饲养人员要善于及时发现问题、分析问题并解决问题。第三,生产过程严格生产记录制度,保证生产记录完整,包括品系名称、繁殖代数(系谱)、繁殖方式、繁殖状况、生长发育状况、异常发生情况等。第四,根据不同品种品系动物的遗传

(下转第 119 页)

do not induce bronchiolitis obliterans in Sprague-Dawley rats[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei), 2000, 63(7): 536-541.

[31] Svetlecic J, Molteni A, Chen Y, et al. Transplant-related bronchiolitis obliterans (BOS) demonstrates unique cytokine profiles compared to toxicant-induced BOS[J]. Exp Mol Pathol, 2005, 79(3): 198-205.

[32] Musah S, Schlueter CF, Humphrey DJ, et al. Acute lung injury and persistent small airway disease in a rabbit model of chlorine inhalation[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2017, 315: 1-11.

[33] Sommer W, Knofel AK, Madrahimov N, et al. Allogeneic CD4+ CD25high T cells regulate obliterative bronchiolitis of heterotopic bronchus allografts in both porcized and humanized mouse models[J]. 2015, 99(3): 482-491.

[34] Kawakami T, Ito K, Matsuda Y, et al. Cytotoxicity of natural killer cells activated through NKG2D contributes to the development of bronchiolitis obliterans in a murine heterotopic tracheal transplant model [J]. Am J Transplant, 2017, 17(9): 2338-2349.

[35] Ropponen JO, Keranen MA, Raissadati A, et al. Increased myeloid cell hypoxia-inducible factor-1 delays obliterative airway disease in the mouse [J]. J Heart Lung Transplant, 2016, 35(5): 671-678.

[收稿日期] 2018-09-06

(上接第 113 页)

特征定期进行遗传检测,其中近交系动物应保持遗传均质性和基因单态性,封闭群动物应保持遗传异质性和基因多态性并保证近交系数每代上升不超过 1%。第四,动物生产单位应建立规范的活体保种和冷冻保种体系,防止种源发生遗传质量事故。

### 3 结语

实验动物遗传质量是保障实验动物生产和动物实验结果可靠性的重要因素,但在实际工作中由于动物遗传质量问题产生的效果延迟和难于发现等原因,使实验动物的遗传质量问题长期存在。另外,实验动物生产管理者和实验动物使用者每当谈到实验动物的质量时,更多地重视实验动物的微生物学和寄生虫学质量,往往忽略遗传质量问题。实际上遗传质量与微生物质量一样都会对实验动物产生重要影响,遗传质量控制某种程度上甚至比微生物质量控制更重要。实验动物遗传质量问题不但导致动物生产群体的质量下降,而且也是动物实验结果无法重复的重要原因<sup>[5]</sup>。实验动物专业技术人员培训和实验动物教学过程中培养学生实验动物遗传质量控制的意识是十分必要的。在培训

和教学过程中通过理论和实例的讲解,强化对实验动物遗传质量控制重要性的认识,培养他们善于发现实验动物遗传质量问题,找出问题的根源,提出解决问题的办法。

### 参考文献:

[1] 左宝芬,杜小燕,霍学云等.五个 C57BL/6J 小鼠生产群的微卫星检测及遗传学质量分析[J]. 实验动物与比较医学. 2012, 32(1): 51-55.

[2] da Silva Franchi CA, Bacchi MM, Padovani CR, et al. Thymic lymphomas in Wistar rats exposed to N-methyl-N-nitrosourea (MNU) [J]. Cancer Sci, 2003, 94(3): 240-243.

[3] Uhlik MT, Liu J, Falcon BL, et al. Stromal-based signatures for the classification of gastric cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(9): 2573-2586.

[4] 蔡武卫. 实验动物遗传质控制及其意义[J]. 海峡预防医学杂志. 1997, 3(3): 68-69.

[5] Lilue J, Doran AG, Fiddes IT, et al. Multiple laboratory mouse reference genomes define strain specific haplotypes and novel functional loci [J]. Nat Genet, 2018, 50(11): 1574-1583.

[收稿日期] 2018-10-29