

615 近交系小鼠及其在 实验肿瘤研究中的应用

褚建新 李肇玫 主编

35

人 民 卫 生 出 版 社 ●

V149.4/10

615近交系小鼠及其在实验 肿瘤研究中的应用

褚建新 李肇玫 主编

尤胜国	尤育初	王立
甘午君	冯宝章	仲涛
邢瑞昌	孙靖	朱明娟 编写
李肇玫	宋玉华	何一心
陆伯甫	范维珂	钱振超

褚建新(按姓氏笔划排列)

中国医学科学院血液学研究所 陈文杰 教授审阅

人民卫生出版社

内 容 简 介

615近交系小鼠是我国自己培育的、使用最广和影响最大的近交系小鼠。本书详细地叙述了615小鼠的建立过程,生长发育特点,以及繁殖、生产和管理方法;介绍了615小鼠纯合程度的鉴定结果和小鼠纯合程度鉴定的方法和经验。书中对615小鼠各方面的生物学特性,特别是血液学的有关指标,作了详细报道。本书还用较大的篇幅编写了国内利用615小鼠建立的各种肿瘤模型,包括肝癌、肺腺癌、胃癌、乳腺癌、宫颈癌、软组织肉瘤,以及多株白血病等的建立过程及主要生物学特性;编写了615小鼠在白血病病因发病学以及免疫学研究方面的应用结果。书中不少资料是第一次发表。本书是立足于国内条件的实用参考书。对从事实验动物培育和饲养工作者、实验肿瘤研究者、医学生、研究生,以及从事其他实验医学研究的工作者都有实用参考价值。

615近交系小鼠及其在实验肿瘤研究中的应用

褚建新 李肇玫 主编

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

密云卫新综合印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 6印张 2插页 132千字

1989年2月第1版 1989年2月第1版第1次印刷

印数: 00,001—3,350

ISBN 7-117-00293-x/R·294 定价:3.70元

[科技新书目186—157]

序 言

近交系小鼠是生物医学研究一个不可缺少的重要工具，它为医学的发展作出了重大的贡献。建国以来，我国医学科学工作者在从国外引进近交系小鼠的基础上，也培育了几株近交系小鼠。615近交系小鼠就是其中之一。这株近交系小鼠是中国医学科学院血液学研究所动物室肖泽文同志培育出来的，已经繁育64代，延续了23年；在国内许多实验室广为使用和繁育，有的已成为615近交系小鼠的亚系。人类几种主要的肿瘤模型，如肺癌、肝癌、胃癌、乳腺癌，以及多株白血病等，都已在615近交系小鼠中建立起来。615小鼠是我国自己培育的近交系小鼠中使用最广和影响最大的近交系小鼠之一，1985年已正式列为国际标准近交系小鼠。

本书详细叙述了615近交系小鼠的建立过程，生长发育特点，以及繁殖、生产和管理方法；介绍了615近交系小鼠纯合程度的鉴定结果，这些结果不仅证明了615小鼠的纯合程度达到了国际纯系小鼠的标准，而且也具体地提供了进行小鼠纯合程度鉴定的方法和经验。书中对615小鼠各方面的生物学特性，特别是血液学的有关指标，作了详细报道，并与国外有关资料进行比较，为读者利用615小鼠进行实验研究提供了有价值的资料。本书还用较大的篇幅编写了国内利用615小鼠建立的各种肿瘤模型及其他方面的应用情况。其中对各种615小鼠的肿瘤模型的建立过程，主要生物学特性作了简要介绍，并列出了有关参考文献，为研究工作者利用这些肿瘤模型进行实验研究提供了方便。书中不少资料还是

第一次公开发表，是一本有内容，有特色的好书。这本书不仅对从事实验动物培育、饲养工作者，而且对实验肿瘤研究者、医学生、研究生，以及从事其他实验医学研究的工作者，都有一定的参考价值。

615近交系小鼠和L 615白血病模型曾荣获1982年卫生部科研成果奖，现在又出版了《615近交系小鼠及其在实验肿瘤研究中的应用》一书，这确是值得庆贺的一件事。它是我国许多从事实验医学研究的同志坚持自力更生，长期辛勤劳动的成果，也是党和人民重视和发展实验医学研究的体现。由于该书是以国内自己的研究结果为主进行编写的，因此，在资料的选择、取舍、编辑上定有许多不当之处。这些我想将会得到读者的热情帮助，加以修正和充实。我们希望该书的问世将不仅有利于615近交系小鼠及其各种肿瘤模型的推广使用，而且为在我国培育更多、更有特色的近交系小鼠和建立更多、更理想的人类各种疾病的动物模型起到推动作用。为我国实验医学的繁荣和发展，为人类的健康和幸福作出更大贡献！

陈文杰

目 录

第一章 实验小鼠的发展简史.....	1
第二章 615近交系小鼠的建立、繁育及饲养管理.....	5
一、615小鼠的建立	5
二、615小鼠繁育的方法	5
三、615小鼠 饲养管理方法	10
第三章 615近交系小鼠遗传质量检测	14
一、615小鼠皮肤移植试验	14
二、615小鼠毛色基因检测	16
三、615小鼠的生化标记基因检查	19
四、615小鼠混合淋巴细胞培养	25
五、615小鼠血红蛋白分子遗传学分析.....	28
六、615小鼠H-2单型鉴定	33
第四章 615近交系小鼠的生物学特性	39
一、615小鼠不同生长时期特点.....	39
二、615小鼠解剖学特征	40
三、615小鼠的生育能力	42
四、615小鼠自发性肿瘤	46
五、615小鼠心电图、血压及体温.....	53
六、615小鼠染色体研究	59
七、615小鼠血清蛋白组分的电泳分析	67
第五章 615近交系小鼠血液学观察	70
一、615小鼠血像	70
二、615小鼠骨髓细胞形态	73
三、615小鼠骨髓细胞化学	81
四、615小鼠血容量及红细胞压积	84

五、615小鼠造血干细胞及粒系前体细胞.....	86
六、615小鼠骨髓细胞在体内扩散盒培养中的生长和分 化.....	90
第六章 615近交系小鼠常见疾病	95
一、鼠痘.....	95
二、支原体病.....	97
三、病毒性肝炎.....	101
四、其他疾病.....	102
第七章 615近交系小鼠在实验白血病研究中的应用...	104
一、利用615小鼠建立的白血病模型	104
二、615小鼠在白血病病因发病学研究中的应用	124
三、615小鼠白血病在抗癌药物筛选和实验治疗中的应 用.....	134
第八章 615近交系小鼠在实体瘤研究中的应用.....	143
一、肝癌模型的建立及研究.....	143
二、肺癌模型的建立及研究.....	152
三、前胃癌模型的建立及研究.....	157
四、乳腺癌模型的建立及研究.....	161
五、其它肿瘤模型.....	166
第九章 615近交系小鼠在免疫学研究中的应用.....	177
一、正常615小鼠的一般免疫学指标.....	177
二、615小鼠在肿瘤免疫学研究中的初步应用.....	182

第一章 实验小鼠的发展简史

实验小鼠起源于野生小鼠。人类开始饲养、繁殖小鼠的年代不详，据称，在1800年就开始用小鼠做实验动物，当时在欧洲只用于遗传实验。到了二十世纪才被用于各种研究领域。1907年 Little 用小鼠进行毛色遗传实验；1909年又将毛色遗传研究用的小鼠进行同胞兄妹交配培育成功 DBA 近交系小鼠。1913年 Bagg 以俄亥俄州商人的小鼠培育成功一株 Bagg 白化小鼠，即现在的 BALB/C 近交系小鼠。1920年 Strong 建立了 C₃H 和 CBA 系小鼠。1921年 Little 又用 Lathrop 的 C 支中的雌鼠 57 和雄鼠 52 交配分离出 C57BL 和 C57BR 两个品系小鼠。

随着不同近交品系小鼠的建立，一些相应的研究室和有关国际组织相继成立，1929年 Little 建立了近交系小鼠的专门研究室——Jackson 研究室。1939~1940年 Snell 创立了小鼠遗传基因命名委员会，并于1940年公布了小鼠遗传位点命名规则。1952年国际实验动物委员会首次公布了符合近交系命名标准的80个近交品系小鼠。至1980年，公布的近交系小鼠已有250个品系。

近年来各国正在研究单亲纯合二倍体小鼠和嵌合体小鼠的培育。日本实验动物中央研究所和中国科学院发生学研究所均已成功地培育出嵌合体小鼠，对研究实验胚胎学、发生遗传学及免疫学等提供了良好的实验工具。在近交系和突变型动物的基础上又培育成同类系 (Coisogenic strain) 和重组近交系 (recombinant inbred strain) 小鼠。

突变型动物是研究人类疾病极为重要的动物模型。1962年 Isaacson 和 Cattanch 首先描述了一种无毛的突变型小鼠。1966年 Flanagan 对无毛小鼠从遗传学角度研究确定,无毛是由常染色体隐性基因决定的,命名为 nu 基因。1968年 Pantelouris 发现裸鼠没有胸腺,这一重大发现引起了广大学者研究和应用裸鼠的极大兴趣。裸鼠因其免疫功能缺陷已广泛用于免疫学、肿瘤学、病毒学、内分泌学及遗传学等研究。

由于生物医学研究的发展,实验医学研究遇到了实验动物因微生物感染而干扰影响实验结果的困难。科学家们早在十九世纪后期已开始探讨动物能否在无菌条件下生存的问题。经过10年的研究证明,动物体内没有微生物也能生存。无菌动物的培育成功是实验动物科学的重大突破,为生物医学研究提供了更标准的实验工具。

随着我国科学事业的发展,实验动物科学也逐渐发展起来。除了先后从国外引进30多个近交品系小鼠外,我国的生物医学科学家和实验动物科学工作者也开始培育近交系小鼠。如1955年中国医学科学院实验医学研究所李铭新教授用普通小白鼠进行近亲繁殖,培育成功低癌系的中国1号小鼠(C-1)。1956年天津医学院肿瘤研究室李漪教授用普通小白鼠近亲繁殖培育成低癌系白化小鼠,命名为津白1(TA1);1962年又将昆明种小鼠近亲繁殖培育成功高癌系小鼠,命名为津白2(TA2)。1961年中国医学科学院血液学研究所动物室肖泽文同志用昆明种小鼠和C57BL/血研近交系小鼠杂交,用杂交第一代进行同胞兄妹交配,繁殖培育成功低癌系棕色小鼠,命名为615近交系小鼠。中国人民解放军第二军医大学培育成功的SMMC/c品系小鼠等。1985年,经“国际小鼠标准遗传学命名委员会”审核,615、TA1和TA2小鼠

已列为国际标准近交系小鼠，并正式公布于世。近几年来，各地许多实验动物科学工作者正在大量从事近交系小鼠的培育和研究工作。

1978年，北京、上海先后从国外引入突变型动物，其中研究最多的为裸鼠，1980年后已大量生产，饲养于隔离器、层流室等无菌环境。用无胸腺小鼠已建立了人的结肠癌、肝癌、肺癌等模型。以裸鼠为主要实验对象的科研工作正逐渐展开。

为了加快和发展我国的实验动物科学，国家科学技术委员会于1982年11月在西双版纳召开了实验动物工作会议，制订了实验动物发展规划纲要。1983年9月卫生部在长春召开了全国实验动物工作座谈会，讨论和修改了医学实验动物发展规划和医学实验动物管理暂行条例，并设立医学实验动物学专题委员会。

半个多世纪以来，由于近交系小鼠在肿瘤学、免疫学、遗传学以及生物工程等领域的应用，显示了近交系小鼠在科学实验研究中的重要价值，它是其他实验材料不能代替的。可以预见，随着实验医学生物学的发展，将对近交系小鼠，不仅在数量上，而且在质量和品系上提出更高更新的要求。我们必须顺应这一潮流，努力工作，做出贡献！

（李肇玫）

参 考 文 献

- [1] 钟品仁主编：哺乳类实验动物，人民卫生出版社，1983年。
- [2] 卫生部药品生物制品检定所：免疫缺陷动物模型——裸鼠(nu/nu)的研究。1.裸鼠的繁育及其质量检测。上海实验动物科学4(4):207, 1984.

- [3] Morse III, HC: Origin of Inbred Mice. Academic Press, New York, London 1978.
- [4] Rygaard, J and Povlsen, C O.: Athymic(Nude)mice. from The mouse in Biomedical Research Vol. IV Experimental Biology and Oncology Edited by Foster HL. et al. Chap. IV, pp 51-68, Academic Press, Inc. 1982
- [5] Stazts, J.: Standardized nomenclature for inbred strains of mice: Eight listing Cancer Res., 1985, 45, 945~977.

第二章 615近交系小鼠的建立、繁育及饲养管理

一、615小鼠的建立

615近交系小鼠是中国医学科学院血液学研究所于1961年5月用本所饲养的昆明种白化雌性小鼠和由苏联引进的C57BL/血研黑色雄性近交系小鼠杂交，获得杂交第一代后，用杂交第一代严格按照同胞兄妹交配($b \times s$)的原则，连续繁殖20代以上，得到的一系棕色小鼠(图2-1)。根据建立的年月命名为615近交系小鼠(简称615小鼠)。

二、615小鼠繁育的方法

615小鼠鼠群分维持群(核心群)和生产群两个群体。用生产群进行生产，供做实验；用维持群繁衍后代，维持种群。维持群用同代同胞兄妹交配，使其一代代繁殖，以保持原始种群，并不断向生产群提供鼠种。维持群要求有详细的卡片记录和遗传谱系记载，作为选种和追溯其培养史使用。生产群要求有生产卡片记录，为动物实验提供准确鼠龄。

(一) 维持群

1. 选种

(1) 查看亲代的生育史，选种的主要条件为每胎产子5只以上，不吃仔鼠，仔鼠无病死，两胎生产间隔不超过40

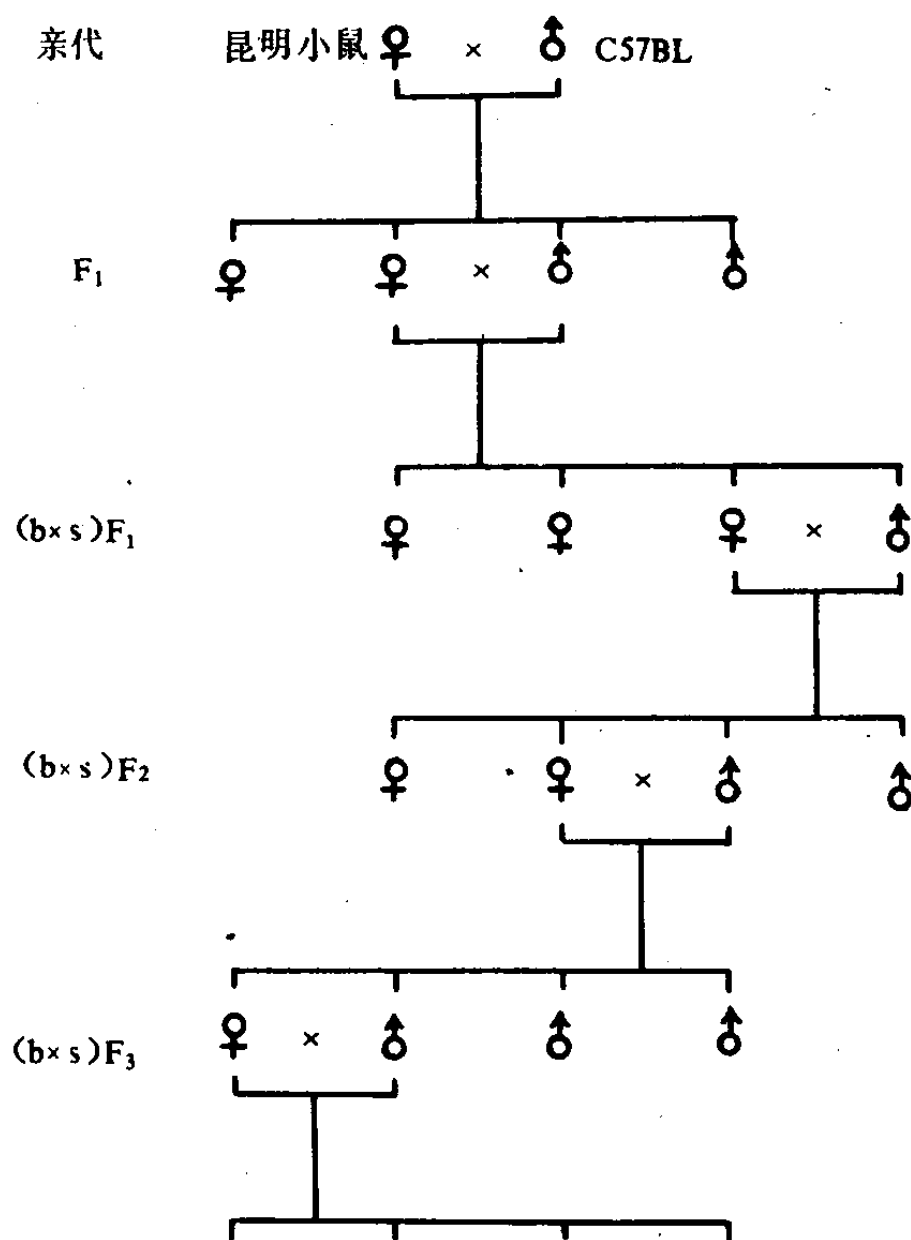


图 2-1 615小鼠培育图解

天。

(2) 在符合上述条件的亲代中,选择所生2~4胎的仔鼠;同胎仔鼠必须生长良好,发育匀称,无缺陷,被毛浓密有光泽,同龄鼠的体重、体长、尾长差异不大,哺乳25~30天分窝时体重达10g以上。

(3) 乳头明显,外生殖器官发育良好。

(4) 选定的一窝鼠按雌雄分装两个已消毒的鼠盒内，并填好育种卡片（表2-1），转入育种室育种。

2. 育种

(1) 每天逐盒检查一次育种鼠，发现有病或体弱者，立即淘汰。

(2) 分窝后第一次换鼠盒时，必须再检查一次性别和健康状况。

表 2-1 维持群育种卡片

育 种 卡 片	
鼠种：	窝
代：	胎
性 别	
数 量	
出生日	
备 注	

3. 配种

(1) 选择育种期满，鼠龄在75~90天，体重雌鼠22g以上，雄鼠25g以上的同胎种鼠进行配种，一雌一雄终生同窝。

(2) 配种装盒时，先装雄鼠，后装雌鼠，防止同一盒内装入二只性别相同的种鼠。装完后及时填好种鼠的繁殖卡片（表2-2）。

(3) 新配种的种鼠容易互相撕咬，一些潜伏性疾病也容易发生，为此要加强管理，发现有咬伤要及时处理，出现疾病全盒淘汰。

(4) 配种后一个月如未受孕，应采取必要措施，防止因不孕而断种。

(5) 种鼠鼠龄到 8 个月即行淘汰。个别种鼠产仔能力强可适当延长，有的种鼠未到 8 个月，但产仔能力低下、隔胎或吃仔严重者也应及时淘汰。

(6) 维持群种鼠应同时保持 3 代产仔，以防止断种。

表 2-2 维持群繁殖卡片

近 交 系 小 鼠 繁 殖 卡 片								
系 号:			鼠种:			配偶数:		
出 生 日:		代:		胎		交配日期:		
系统系号:		代		胎		母号:		
生 产				离 乳		使 用		
日 期	代	胎	数	♀	♂	延续系号	♀	♂

(二) 生 产 群

生产群生产的动物只能供实验用，其鼠种由维持群提供。在同代小鼠内随机交配，一雄一雌或一雄二雌进行配种，终生同窝。配种后填写生产卡片(表2-3、2-4)。种鼠生产 8 个月后淘汰，再从维持群引来种鼠配种 (图2-2)。

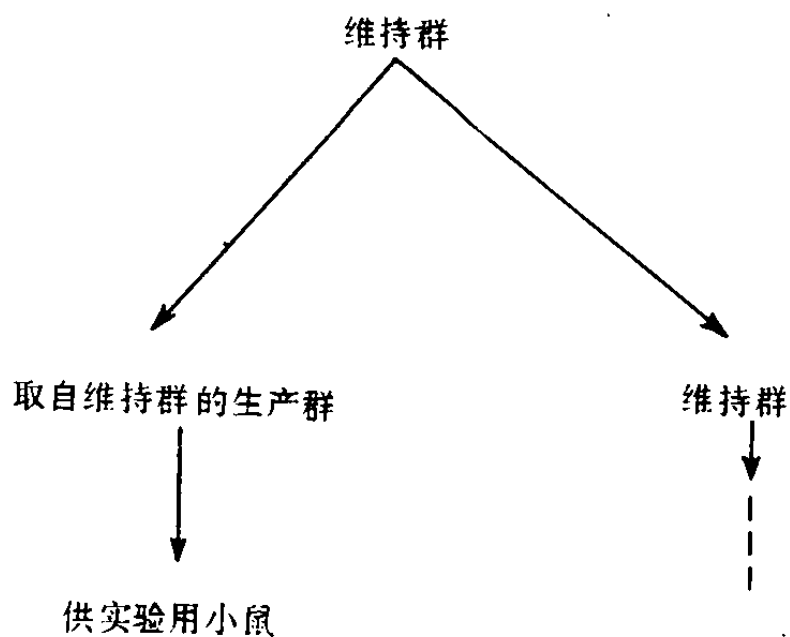


图 2-2 维持群和生产群的关系

表 2-3 生产群卡片
(正面)

种			
第	对第	代第	胎
出生日期	年	月	日
离乳日期	年	月	日
交配日期	年	月	日
记 事			

表 2-4 生产群卡片 (反面)

No. _____ 转种日期 19 年 月 日

生产日期	仔数	仔死数	离乳日期	个数	倒公期	公号

三、615小鼠饲养管理方法

(一) 饲养方法

投料要求定时、定量、定饲料组成。喂饲时间以一周为单元安排日程：每周1、3、5上午喂软料，2、4、6上午喂麦芽，干料块和饮水不间断。喂量见表2-5。

表 2-5 每只鼠每天（次）平均喂量（按离乳后算）

饲料品种	平均每只鼠每天（次）喂量
干料块	2 ~ 4 g
软 料	2 ~ 5 g
麦 芽	3 ~ 5 g(约 1 g 干大麦)

饲料组成：

玉米粉	40份	高粱粉	10份
面 粉	20份	鱼 粉	10份
黄豆粉	15份	骨 粉	3份
麦 麸	15份	食 盐	1份

按上述饲料配方加工成干料块待用。软料亦用干料块配方配制，喂前再加牛奶10份，鱼肝油 1 份，酵母 1 份制成软料饲喂。

(二) 管 理

1. 进入工作室前必须穿工作服，戴口罩、帽子，换鞋，用肥皂洗手。

2. 每周必须检查 3 次全部小鼠。维持群须每天检查一