



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 14927.1—2008  
代替 GB/T 14927.1—2001

---

## 实验动物 近交系小鼠、 大鼠生化标记检测法

Laboratory Animals—  
Methods for biochemical markers of inbred mice and rats

2008-12-10 发布

2009-03-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

GB/T 14927 共分 2 个部分：

——第 1 部分为《实验动物 近交系小鼠、大鼠生化标记检测法》；

——第 2 部分为《实验动物 近交系小鼠、大鼠免疫标记检测法》。

本部分为 GB/T 14927 的第 1 部分。

本部分自实施之日起代替 GB/T 14927.1—2001《实验动物 近交系小鼠、大鼠生化标记检测方法》。

本部分与 GB/T 14927.1—2001 相比主要技术差异如下：

- a) 在近交系小鼠、大鼠生化标记检测方法中的电泳结果模式图基础上，增加电泳图谱；
- b) 调整了近交系小鼠、大鼠生化标记检测方法中的部分生化位点，小鼠增加了肽酶-3(pep3)位点，大鼠增补血清碱性磷酸酶(Alp)和血红蛋白(Hbb)两个生化位点；
- c) 对部分溶液配方进行调整。

本部分的附录 A、附录 B、附录 C 和附录 D 为资料性附录。

本部分由全国实验动物标准化技术委员会提出并归口。

本部分起草单位：全国实验动物标准化技术委员会。

本部分主要起草人：邢瑞昌、刘双环、岳秉飞、鲍世民、张连峰。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 14927.1—1994, GB/T 14927.1—2001。

# 实验动物 近交系小鼠、 大鼠生化标记检测法

## 1 范围

GB/T 14927 的本部分规定了对近交系小鼠、大鼠生化标记进行检测的醋酸纤维膜(板、硬膜)的电泳方法及判断标准。

本部分适用于近交系小鼠和大鼠任何品系。

## 2 术语和定义

下列术语和定义适用于 GB/T 14927 的本部分。

### 2.1

**生化标记 biochemical marker**

表明遗传特征并采用生化方法识别的记号。在小、大鼠中多为一些同工酶和异构蛋白。

### 2.2

**生化遗传概貌 biochemical genetic profile**

各种近交系多个生化遗传标记表型资料的汇总,从一定程度上反应了各种品系的遗传特征。

### 2.3

**纯合性 homozygosity**

同源染色体的相对位置上具有相同基因的状态。近交系动物通过连续的近亲交配绝大部分的位点都具有纯合性。一个品系内任何个体间进行交配产生的后代也具有纯合性。

### 2.4

**同基因性 isogenicity**

一个近交品系中所有个体在遗传上是同源的。因此在同一品系内任何个体间进行皮肤和肿瘤移植不被当作异己而受到排斥。如对近交系动物的基因进行检测,一个品系内不同个体的基因型完全一致。

### 2.5

**个体性 individuality**

就整个近交系动物而言,每个品系在遗传上都是独特的,表现在相当广泛的特性上,如生化遗传概貌等。大多数近交品系可通过各自的生化遗传概貌相互区别。

## 3 方法原理

在小鼠和大鼠体内存在着一些同工酶和同种异构蛋白。可依据它们在特定电场内携带的电荷不同采用电泳的方法将它们区分,并根据电泳带型即蛋白质的表现型推断其基因型,建立各种近交系的遗传概貌,定期对它们进行质量监测。

## 4 设备和材料

4.1 常压电泳仪(0~600 V)。

4.2 醋酸纤维素膜(板、硬膜)电泳槽。

4.3 电泳点样装置。

4.4 醋酸纤维素膜(7 cm×9 cm)。

- 4.5 醋酸纤维素板(6 cm×8 cm)。  
 4.6 醋酸纤维素硬膜(7 cm×9 cm)。  
 4.7 4℃冰箱。  
 4.8 -20℃或-40℃冰箱。  
 4.9 4℃低温高速离心机。  
 4.10 振荡仪。  
 4.11 组织匀浆机(2 mL或5 mL)。  
 4.12 抗凝毛细管。  
 4.13 抗凝毛细管塞子。  
 4.14 毛细管离心机。  
 4.15 吸耳球。  
 4.16 小砂轮。  
 4.17 解剖板。  
 4.18 手术剪,手术镊。  
 4.19 竹镊子。  
 4.20 微波炉。  
 4.21 37℃温箱。  
 4.22 玻璃器皿。  
 4.23 6 cm×8 cm或7 cm×9 cm玻璃板。  
 4.24 普通滤纸。  
 4.25 分析天平。  
 4.26 pH计。  
 4.27 紫外监测仪。  
 4.28 实验室常规用品。  
 4.29 化学试剂:见表1。

表1 化学试剂

中文名称	英文名称(或简写)	分子式	规格
三羟甲基氨基甲烷	Tris	$C_3H_{11}NO_3$	分析纯或化学纯
乙二胺四乙酸	EDTA	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	分析纯或化学纯
硼酸	boric acid	$H_3BO_3$	分析纯或化学纯
甘氨酸	glycine	$C_2H_5NO_2$	分析纯或化学纯
盐酸	hydrochloric acid	HCl	分析纯或化学纯
双氧水	hydrogen peroxide 30% solution	$H_2O_2$	分析纯或化学纯
柠檬酸	citrate acid monohydrate	$C_6H_8O_7 \cdot H_2O$	分析纯或化学纯
磷酸氢二钠	sodium phosphate dibasic	$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$	分析纯或化学纯
磷酸二氢钾	potassium dihydrogen phosphate	$KH_2PO_4$	分析纯或化学纯
氢氧化钠	sodium hydroxide	NaOH	分析纯或化学纯
无水醋酸钠	sodium acetate anhydrous	$NaC_2H_3O_2$	分析纯或化学纯
琼脂粉	agar	—	分析纯或化学纯
醋酸镁	magnesium acetate	$Mg(C_2H_3O_2)_2$	分析纯或化学纯

表 1 (续)

中文名称	英文名称(或简写)	分子式	规格
氯化锰	manganese chloride	MnCl <sub>2</sub>	分析纯
丽春红-S	ponceau S	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> Na <sub>4</sub> O <sub>13</sub> S <sub>4</sub>	分析纯
三氯乙酸	trichloroacetic acid	CCl <sub>3</sub> COOH	分析纯或化学纯
磺基水杨酸	sulfosalicylic acid	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub> S · 2H <sub>2</sub> O	分析纯或化学纯
巴比妥	barbital	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	分析纯或化学纯
巴比妥钠	sodium barbital	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> NaO <sub>3</sub>	分析纯或化学纯
氯化镁	magnesium chloride	MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	分析纯或化学纯
乙二胺四乙酸二钠	Na <sub>2</sub> EDTA	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> O	分析纯或化学纯
三氯化铁	ferric chloride anhydrous	FeCl <sub>3</sub>	分析纯或化学纯
铁氰化钾	ferricyanatum kalium	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	分析纯或化学纯
氢氧化铵	ammonium hydroxide	NH <sub>3</sub> OH	分析纯或化学纯
醋酸	acetic acid	CH <sub>3</sub> COOH	分析纯或化学纯
丙酮	acetone	CH <sub>3</sub> COCH <sub>2</sub>	分析纯或化学纯
葡萄糖-1-磷酸	glucose-1-phosphate	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>9</sub> PN <sub>a</sub>	
胱胺盐酸盐	cystamine dihydrochloride	C <sub>4</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	
二硫苏糖醇	1,4-dithiohreitot(DTT)	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> S	
4-甲基伞形乙酸盐	4-methyl-umbellifery acetate	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	
β-乙酸萘酯	β-naphthyl acetate	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	
β-磷酸萘酯钠盐	β-naphthyl acid phosphate	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> PN <sub>a</sub>	
β-磷酸萘酯二钠盐	β-naphthyl phosphate disodium salt	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> O <sub>4</sub> PN <sub>a2</sub>	
D-果糖-6-磷酸	D-fructose-6-phosphate disodium salt	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>9</sub> Na <sub>2</sub> P	
溴化甲基噻唑蓝	thiazolyl blue tetrazolium bromide(MTT)	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> BrN <sub>8</sub> S	
辅酶 II	β-nicotinamide adenine dinucleotide(TPN)	C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> N <sub>7</sub> O <sub>17</sub> P <sub>3</sub>	
甲硫吩嗪酸酯	N-methyl phenazinium methyl sulfate(PMS)	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> SO <sub>4</sub>	
异柠檬酸三钠盐	DL-isocitric acid trisodium salt	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> Na <sub>3</sub>	
葡萄糖-1,6-二磷酸	glucose-1,6-diphosphate	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>12</sub> P <sub>2</sub>	
葡萄糖-6-磷酸	D-glucose-6-phosphate	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> O <sub>9</sub> PN <sub>a2</sub>	
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶	glucose-6-phosphate dehydrogenase	—	
苹果酸	DL-malic acid	HO <sub>2</sub> CCH <sub>2</sub> (OH)CO <sub>2</sub> H	
坚固蓝 RR 盐	fast blue RR salt	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> + 1/2ZnCl <sub>4</sub>	
L-白氨酸-L-丙氨酸	L-leucyl-L-alanine	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	
过氧化物酶	peroxidase		
邻二甲氧基联苯胺盐酸盐	o-dianisidine dihydrochloride	[C <sub>8</sub> H <sub>3</sub> (OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ] <sub>2</sub>	
β-磷酸萘酚	β-naphthyl acid phosphate	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> PNa <sub>2</sub>	
硫酸镁	magnesium sulfate	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	分析纯或化学纯

## 5 生化标记检测方法总则

### 5.1 电泳样品的制备

#### 5.1.1 血浆

以抗凝毛细管行眼眶采血术,  $500\times g$ , 离心 5 min, 分离血浆和血球, 吸出血浆备用。

#### 5.1.2 溶血素

在去除血浆的富含红血球的试管内加入蒸馏水, 红血球与蒸馏水的比例一般为  $1:4(V/V)$ , 振荡 1 min, 成为红色透明液体, 即为溶血素。

#### 5.1.3 组织匀浆上清液

采用安死术处死动物, 剖腹, 小鼠取肾脏 1 只, 肝脏 1 叶; 大鼠取肾脏 1 只, 小肠 6 cm~8 cm, 睾丸 1 只, 并开胸取肺脏 1 叶。分别加入适量预冷蒸馏水, 蒸馏水与组织的比例一般为  $2:1(V/m)$ 。分别用组织匀浆器匀浆。匀浆液置  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温高速离心机中,  $2\,000\times g$ , 30 min。以吸管吸取上清液存入小试管中备用。

#### 5.1.4 样品保存

上述制备样品均宜新鲜使用, 在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  普通冰箱中只能保存一天, 在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  或  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温冰箱中保存不超过一个月。

### 5.2 电泳步骤

#### 5.2.1 浸膜

将醋酸纤维素膜(板、硬膜)轻轻浸入相应的电泳缓冲液(参见附录 A)中, 浸入时应避免膜(板、硬膜)上出现气泡。

#### 5.2.2 点样

将浸透的膜(板、硬膜), 取出以滤纸吸干, 纤维素膜(板、硬膜)面朝上, 平置在点样板上, 以点样器取预置在样品槽内的编号样品, 在膜(板、硬膜)上点样。一次点样量为  $0.3\ \mu\text{L}$ , 为增加膜(板、硬膜)上的样品量, 可重复点样, 最适点样量不宜超过  $0.9\ \mu\text{L}$ (三次)。

#### 5.2.3 电泳

以记号笔在膜(板、硬膜)上标明原点, 泳动方向, 迅速将膜(板、硬膜)搭在事先放入缓冲液的电泳槽纸桥上, 盖上电泳槽, 接通电源, 电泳条件见相关条款。

### 5.3 染色

#### 5.3.1 蛋白染色法

电泳结束后取出膜(板、硬膜)置入  $0.2\%$  丽春红染液中, 5 min 后以竹镊子取出换以  $5\%\sim 7\%$  醋酸脱色直至电泳区带清晰可见。

#### 5.3.2 酶显色板法

适用于醋酸纤维素膜。

5.3.2.1 将酶显色液(参见附录 B)新鲜混和。加入  $2\%$  热琼脂  $3\ \text{mL}\sim 4\ \text{mL}$ , 迅速混匀, 均匀倒置在  $7\ \text{cm}\times 9\ \text{cm}$  的玻璃板上, 制成酶显色板。

5.3.2.2 电泳结束后取出膜将点样面贴在酶显色板上, 注意将膜与酶显色板间的气泡排尽, 但不可移动膜的位置。

5.3.2.3 将带膜显色板移至  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  温箱保温, 直至酶区带清晰显现。

5.3.2.4 取下已显色的膜浸入  $5\%\sim 7\%$  醋酸中终止反应。

#### 5.3.3 琼脂覆盖法

适用于醋酸纤维素板(硬膜)。

- 5.3.3.1 电泳结束后取出醋酸纤维素板(硬模)。
- 5.3.3.2 新鲜混和酶显色液,迅速与2 mL~3 mL 2%热琼脂混匀,均匀倒放在水平放置的醋酸纤维素板(硬模)上。
- 5.3.3.3 待琼脂冷却固定后,将醋酸纤维素板(硬模)移入37℃温箱,直至酶区带清晰显现。
- 5.3.3.4 将醋酸纤维素板(硬模)放入5%~7%醋酸中终止反应。

## 6 小鼠生化标记检测细则

### 6.1 碱性磷酸酶-1(alkaline phosphatase-1, Akp1)Chr. 1

- 6.1.1 样品:肾匀浆,0.6  $\mu$ L。
- 6.1.2 缓冲液:Tris-Citrate pH 8.3 参见附录 A 的第 A.9 章。
- 6.1.3 电泳支持物:醋酸纤维硬膜(板)。
- 6.1.4 电泳条件: $U=200$  V, $t=40$  min,移动方向由负极至正极。
- 6.1.5 染色方法:琼脂覆盖法。
- 6.1.6 染色液:参见附录 B 的第 B.11 章。
- 6.1.7 标准对照:

Akp1	a	C57BL/6J	快带
Akp1	b	CBA/N	慢带

- 6.1.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。
- 6.1.9 Akp1 电泳结果及模式图,见图 1。

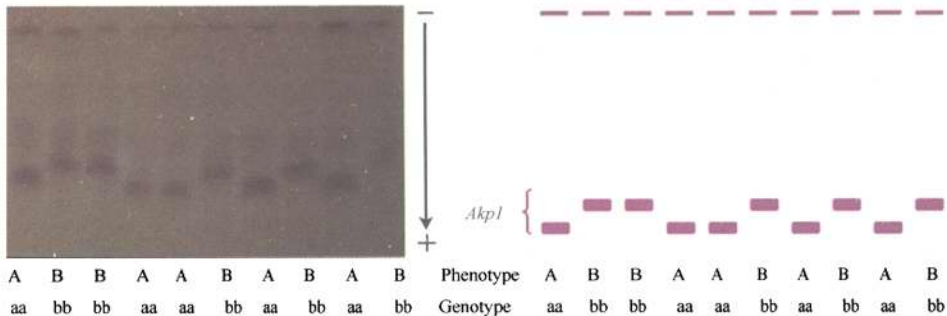


图 1 Akp1 电泳结果及模式图谱

### 6.2 碳酸酐酶-2 (carbonic anhydrase-2, Car2)Chr. 3

- 6.2.1 样品:溶血素,0.3  $\mu$ L。
- 6.2.2 缓冲液: $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ -EDTA pH 5.4 参见附录 A 的第 A.1 章。
- 6.2.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。
- 6.2.4 电泳条件: $U=200$  V, $t=40$  min,移动方向由正极至负极。
- 6.2.5 染色方法:蛋白染色法。
- 6.2.6 染色液:参见附录 B 的第 B.6 章。
- 6.2.7 标准对照:

Car2	a	C57BL/6J	慢带
Car2	b	BALB/cJ	快带

- 6.2.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。
- 6.2.9 Car2 电泳结果及模式图,见图 2。

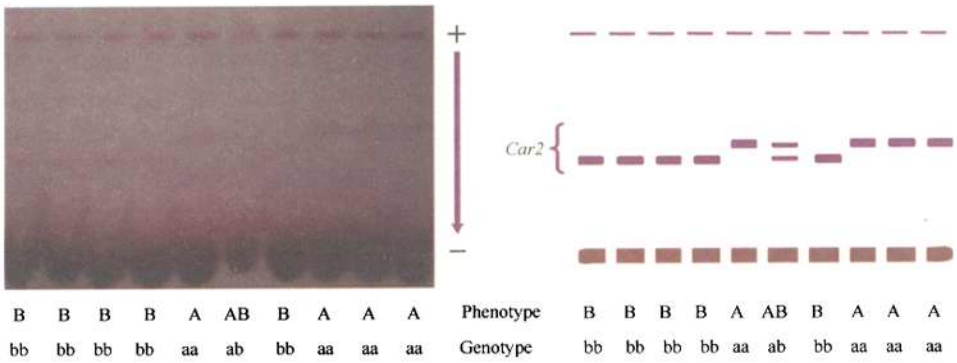


图2 Car2 电泳结果及模式图谱

6.3 肾过氧化氢酶-2 (kidney catelase, Ce2 )Chr. 7

- 6.3.1 样品:肾匀浆以蒸馏水 1:3 稀释,0.3 μL。
- 6.3.2 缓冲液:Tris-Citrate pH 7.6 参见附录 A 的第 A.3 章。
- 6.3.3 电泳支持物:醋酸纤维素膜。
- 6.3.4 电泳条件:U=200 V,t=25 min,移动方向由负极至正极。
- 6.3.5 染色方法:酶显色板法。
- 6.3.6 染色液:参见附录 B 的第 B.8 章。
- 6.3.7 标准对照:
 

Ce2	a	BALB/cJ	快带
Ce2	b	CBA/N	慢带
- 6.3.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。
- 6.3.9 Ce2 电泳结果及模式图,见图 3。

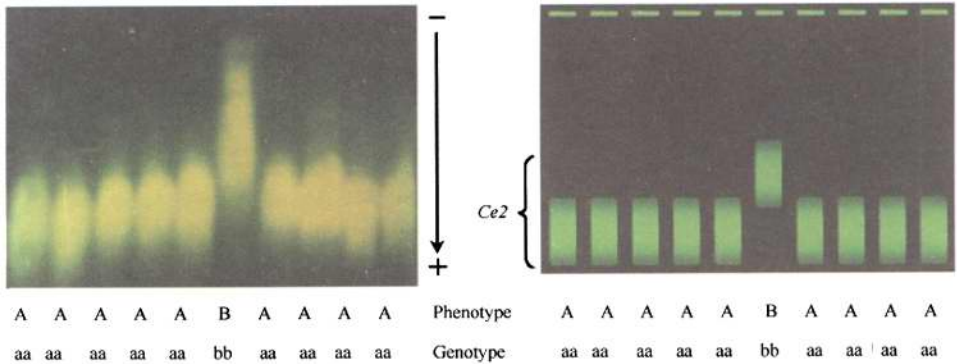


图3 Ce2 电泳结果及模式图谱

6.4 酯酶-1(esterase-1, Es1 )Chr. 8

- 6.4.1 样品:血清,0.3 μL。
- 6.4.2 缓冲液:phosphate buffer pH 7.0 参见附录 A 的第 A.2 章。
- 6.4.3 电泳支持物:醋酸纤维素膜。
- 6.4.4 电泳条件:U=140 V,t=30 min,移动方向由负极至正极。
- 6.4.5 染色方法:酶显色板法。
- 6.4.6 染色液:参见附录 B 的第 B.1 章。
- 6.4.7 标准对照:
 

Es1	a	C57BL/6J	快带
Es1	b	CBA/N	慢带



6.4.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.4.9 *Es1* 电泳结果及模式图,见图 4。

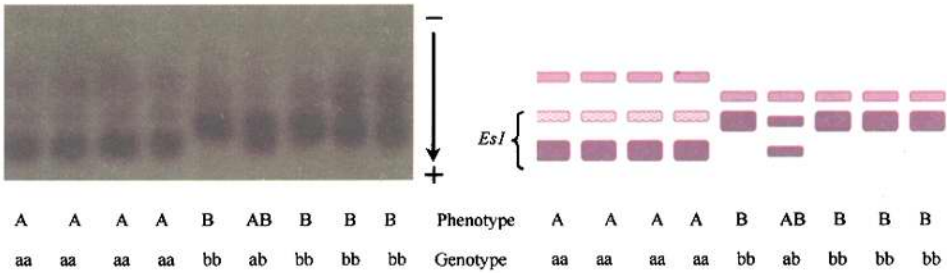


图 4 *Es1* 电泳结果及模式图谱

6.5 酯酶-3(esterase-3, *Es3*)Chr. 11

6.5.1 样品:肾匀浆。

6.5.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.9 参见附录 A 的第 A.7 章。

6.5.3 电泳支持物:醋酸纤维硬膜。

6.5.4 电泳条件: $U=280\text{ V}$ ,  $t=28\text{ min}$ ,移动方向由负极至正极。

6.5.5 染色方法:琼脂覆盖法。

6.5.6 染色液:参见附录 B 的第 B.1 章。

6.5.7 标准对照:

<i>Es3</i>	a	BALB/cJ	慢带
<i>Es3</i>	b	TW	快带
<i>Es3</i>	c	CBA/N	最慢带

6.5.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.5.9 *Es3* 电泳结果及模式图,见图 5。

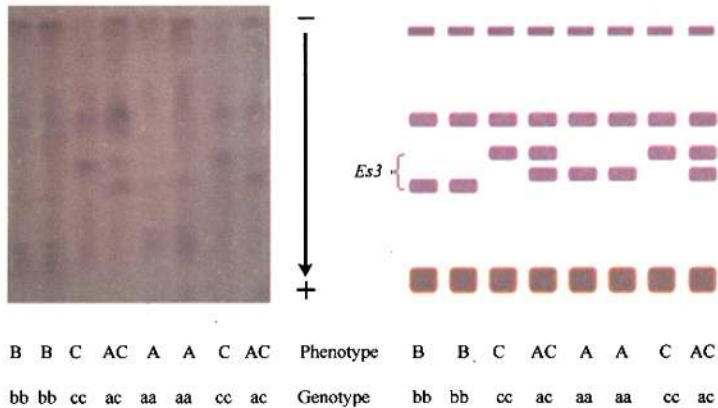


图 5 *Es3* 电泳结果及模式图谱

6.6 酯酶-10(esterase-10, *Es10*)Chr. 14

6.6.1 样品:肾、肝匀浆。

6.6.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.9 参见附录 A 的第 A.7 章。

6.6.3 电泳支持物:醋酸纤维素板(硬膜)。

6.6.4 电泳条件: $U=280\text{ V}$ ,  $t=28\text{ min}$ ,移动方向由负极至正极。

6.6.5 染色方法:琼脂覆盖法。

6.6.6 染色液:参见附录 B 的第 B.2 章。

6.6.7 标准对照:

<i>Es10</i>	a	BALB/cJ	慢带
<i>Es10</i>	b	CBA/N	快带
<i>Es10</i>	c	TW	最慢带

6.6.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.6.9 *Es10* 电泳结果及模式图,见图 6。

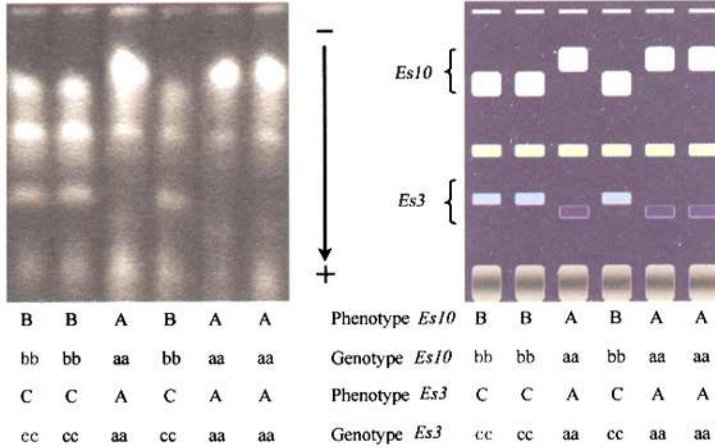


图 6 *Es10* 电泳结果及模式图谱

6.7 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1(glucose-6-phosphate dehydrogenase-1, *Gpd1*)Chr. 4

6.7.1 样品:新鲜肝或肾匀浆,0.9  $\mu$ L。

6.7.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.9 参见附录 A 的第 A.7 章。

6.7.3 电泳支持物:醋酸纤维素板(硬膜)。

6.7.4 电泳条件: $U=200$  V, $t=45$  min,移动方向由负极至正极。

6.7.5 染色方法:琼脂覆盖法。

6.7.6 染色液:参见附录 B 的第 B.7 章。

6.7.7 标准对照:

<i>Gpd1</i>	a	C57BL/6J	慢带
<i>Gpd1</i>	b	BALB/cJ	快带
<i>Gpd1</i>	c	TW	最慢带

6.7.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.7.9 *Gpd1* 电泳结果及模式图,见图 7。

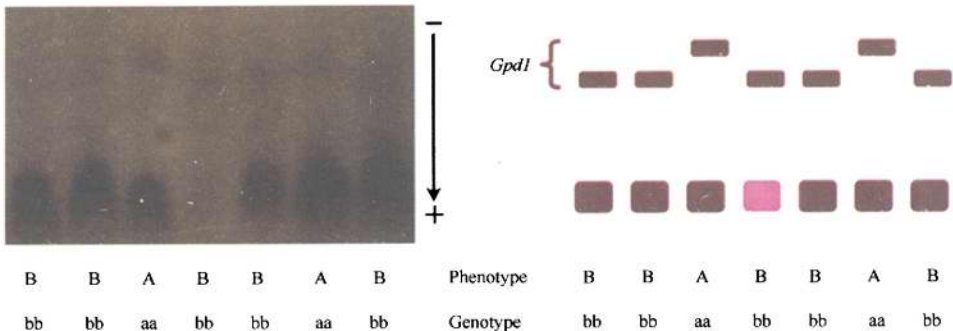


图 7 *Gpd1* 电泳结果及模式图谱

6.8 葡萄糖磷酸异构酶-1(glucosephosphate isomerase-1,*Gpi1*)Chr. 7

6.8.1 样品:溶血素,0.3  $\mu$ L。

- 6.8.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.5 参见附录 A 的第 A.6 章。
- 6.8.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。
- 6.8.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ ,  $t=30\text{ min}$ , 移动方向由正极至负极。
- 6.8.5 染色方法:琼脂覆盖法。
- 6.8.6 染色液:参见附录 B 的第 B.3 章。
- 6.8.7 标准对照:

<i>Gpi1</i>	a	BALB/cJ	慢带
<i>Gpi1</i>	b	C57BL/6J	快带

- 6.8.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。
- 6.8.9 *Gpi1* 电泳结果及模式图,见图 8。

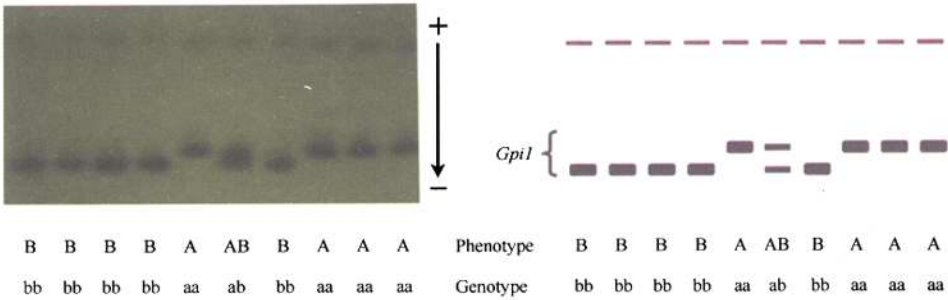


图 8 *Gpi1* 电泳结果及模式图谱

- 6.9 血红蛋白-β 链(hemoglobinβ-chain, *Hbb*)Chr. 7
- 6.9.1 样品:溶血素内加入 1/4 体积的烷化剂,参见附录 B 的第 B.9 章,0.3 μL。
- 6.9.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.5 参见附录 A 的第 A.6 章。
- 6.9.3 电泳支持物:醋酸纤维素膜。
- 6.9.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ ,  $t=30\text{ min}$ , 移动方向由负极至正极。
- 6.9.5 染色方法:蛋白染色法。
- 6.9.6 染色液:参见附录 B 的第 B.6 章。
- 6.9.7 标准对照:

<i>Hbb</i>	s	C57BL/6J	快带
<i>Hbb</i>	d	BALB/cJ	慢带

- 6.9.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。
- 6.9.9 *Hbb* 电泳结果及模式图,见图 9。

不加烷化剂处理的电泳结果及模式图,见图 10。

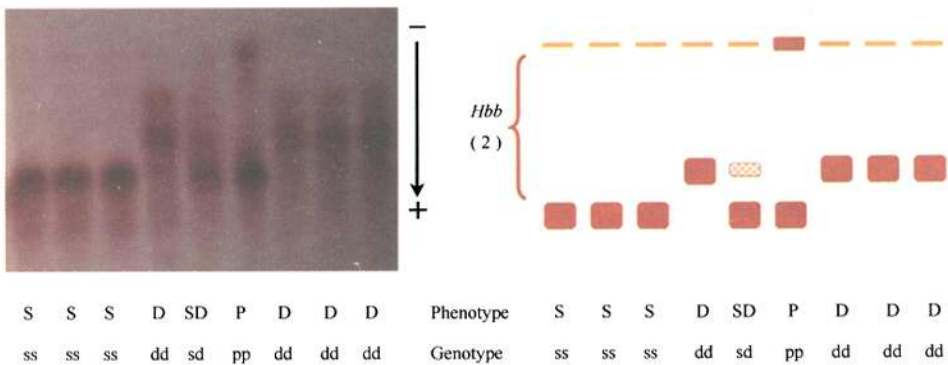


图 9 *Hbb* 电泳结果及模式图谱

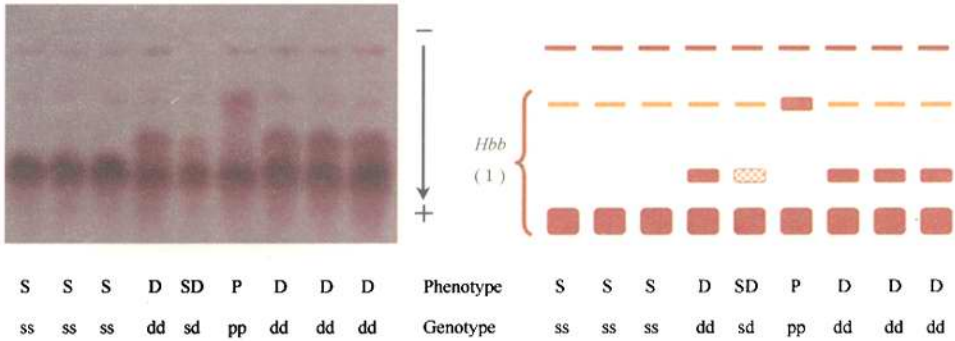


图 10 *Hbb* 电泳结果及模式图谱(未烷化)

6.10 异柠檬酸脱氢酶-1 和苹果酸酶-1(isocitrate dehydrogenase-1, malic enzyme-1, *Idh1* 和 *Mod1*) Chr. 1,9

6.10.1 样品:肾匀浆 0.3  $\mu$ L。

6.10.2 缓冲液:Tris-Citrate pH 7.6 参见附录 A 的第 A.3 章。

6.10.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。

6.10.4 电泳条件: $U=200$  V,  $t=35$  min, 移动方向由负极至正极。

6.10.5 染色方法:琼脂覆盖法。

6.10.6 染色液:参见附录 B 的第 B.4 章。

6.10.7 标准对照:

<i>Idh1</i>	a	BALB/c	慢带
<i>Idh1</i>	b	CBA/N	快带
<i>Mod1</i>	a	BALB/c	快带
<i>Mod1</i>	b	CBA/N	慢带

6.10.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.10.9 *Idh1* 和 *Mod1* 电泳结果及模式图,见图 11。

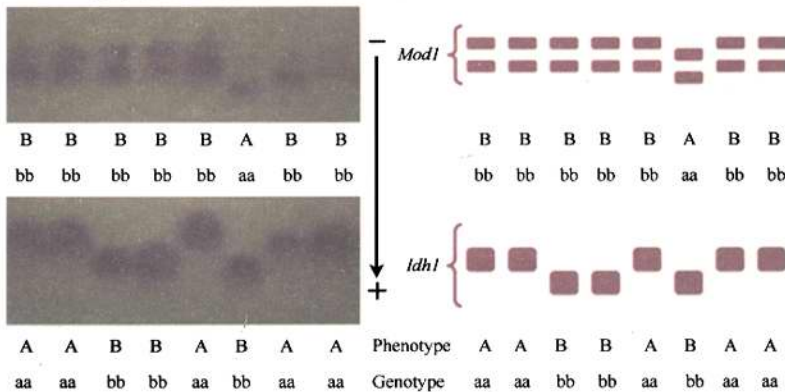


图 11 *Idh1* 和 *Mod1* 电泳结果及模式图

6.11 肽酶-3(peptidase-3, *Pep3*) Chr. 1

6.11.1 样品:肾匀浆,0.6  $\mu$ L。

6.11.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.5 参见附录 A 的第 A.6 章。

6.11.3 电泳支持物:醋酸纤维硬膜。

6.11.4 电泳条件: $U=200$  V,  $t=30$  min, 移动方向由负极至正极。

6.11.5 染色方法:琼脂覆盖法。

6.11.6 染色液:参见附录 B 的第 B.12 章。

6.11.7 标准对照:

<i>Pep3</i>	a	C57BL/6J	慢带
<i>Pep3</i>	b	CBA/N	快带
<i>Pep3</i>	c	TA1/TM	最快

6.11.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.11.9 *Pep3* 电泳结果及模式图,见图 12。

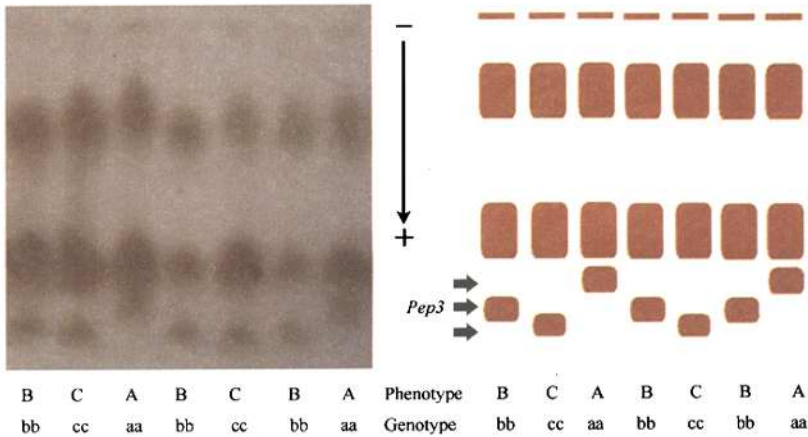


图 12 *Pep3* 电泳结果及模式图

6.12 磷酸葡萄糖转位酶-1(phosphoglcomulase-1, *Pgm1*)Chr. 5

6.12.1 样品:肾匀浆,0.6  $\mu$ L。

6.12.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.5 参见附录 A 的第 A.6 章。

6.12.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。

6.12.4 电泳条件: $U=200$  V, $t=40$  min,移动方向由负极至正极。

6.12.5 染色方法:琼脂覆盖法。

6.12.6 染色液:参见附录 B 的第 B.5 章。

6.12.7 标准对照:

<i>Pgm1</i>	a	C57BL/6J	快带
<i>Pgm1</i>	b	CBA/N	慢带

6.12.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。

6.12.9 *Pgm1* 电泳结果及模式图,见图 13。

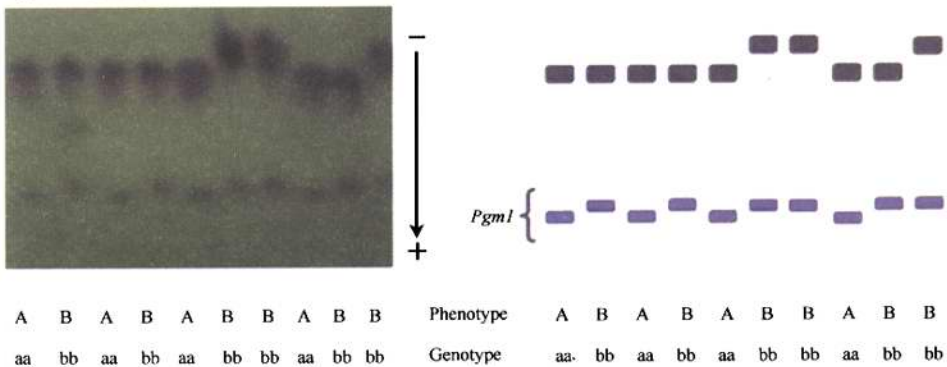


图 13 *Pgm1* 电泳结果及模式图

6.13 转铁蛋白(transferrin, *Trf*)Chr. 9

- 6.13.1 样品:血清,0.3 μL。
- 6.13.2 缓冲液:Tris-Glycine pH 8.5 参见附录 A 的第 A.6 章。
- 6.13.3 电泳支持物:醋酸纤维素膜。
- 6.13.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ , $t=25\text{ min}$ ,移动方向由负极至正极。
- 6.13.5 染色方法:蛋白染色法。
- 6.13.6 染色液:参见附录 B 的第 B.6 章。
- 6.13.7 标准对照:
 

<i>Trf</i>	a	CBA/N	快带
<i>Trf</i>	b	C57BL/6J	慢带
- 6.13.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 C 作比较。
- 6.13.9 *Trf* 电泳结果及模式图,见图 14。

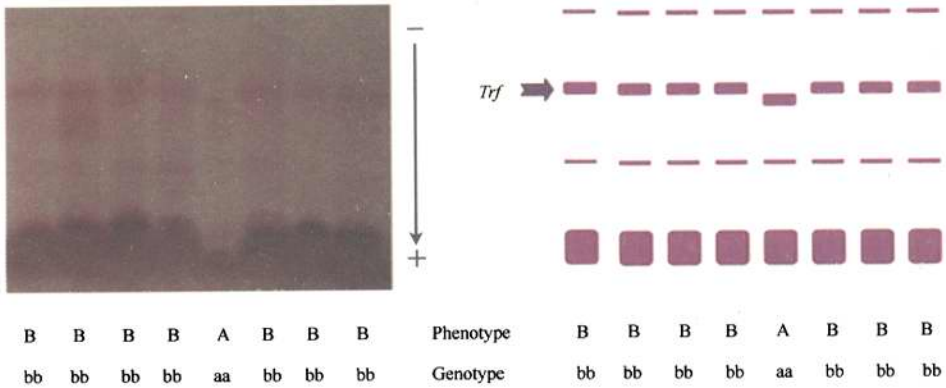


图 14 *Trf* 电泳结果及模式图

7 大鼠生化标记检测细则

7.1 碱性磷酸酶-1 (alkaline phosphatase-1, *Akp1*)Chr. 9

- 7.1.1 样品:肾匀浆,0.3 μL。
- 7.1.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate-MgCl<sub>2</sub> pH 7.6 参见附录 A 的第 A.8 章。
- 7.1.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。
- 7.1.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ , $t=40\text{ min}$ ,移动方向由负极至正极。
- 7.1.5 染色方法:琼脂覆盖法。
- 7.1.6 染色液:参见附录 B 的第 B.10 章。
- 7.1.7 标准对照:
 

<i>Akp1</i>	a	F334/N	一条带
<i>Akp1</i>	b	WKY	缺失一条带
- 7.1.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。
- 7.1.9 *Akp1* 电泳结果及模式图,见图 15。

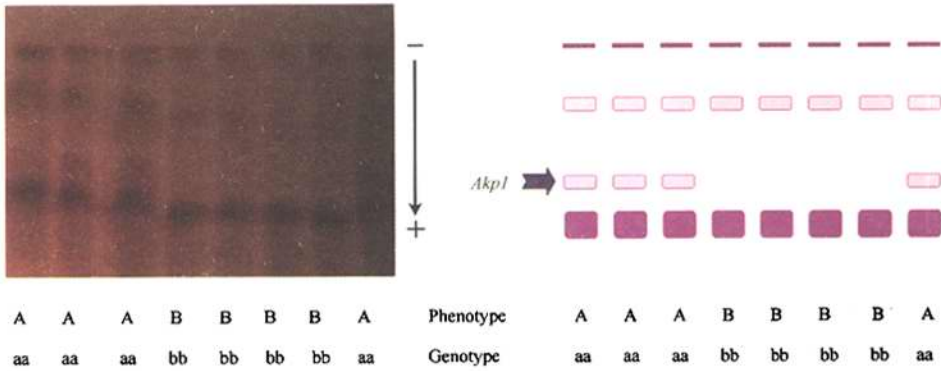


图 15 Akp1 电泳结果及模式图

7.2 血清碱性磷酸酶-1(plasma alkaline phosphatase-1, Alpl)Chr. 9

7.2.1 样品:血清,0.3 μL。

7.2.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.2.3 电泳支持物:醋酸纤维硬膜。

7.2.4 电泳条件:U=200 V,t=30 min,移动方向由负极至正极。

7.2.5 染色方法:琼脂覆盖法。

7.2.6 染色液:参见附录 B 的第 B.13 章。

7.2.7 标准对照:

Alpl	a	SHR	快带
Alpl	b	BN	慢带

7.2.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.2.9 Alpl 电泳结果及模式图,见图 16。

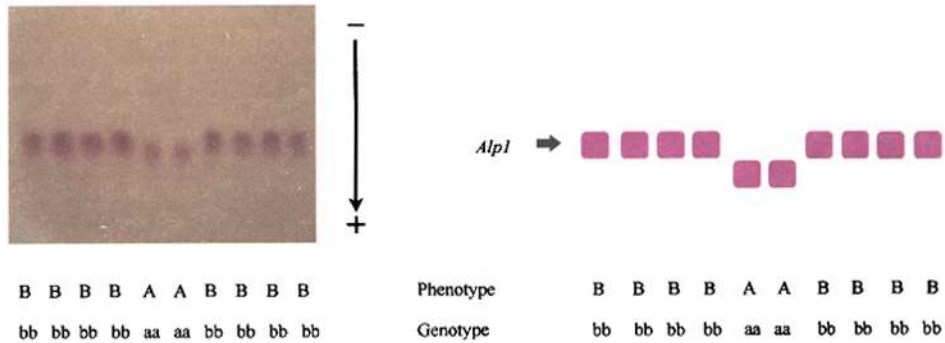


图 16 Alpl 电泳结果及模式图

7.3 过氧化氢酶-1(Catalase-1,Cs1)Chr. 2

7.3.1 样品:溶血素,0.6 μL。

7.3.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.3.3 电泳支持物:醋酸纤维素膜。

7.3.4 电泳条件:U=200 V,t=30 min,移动方向由负极至正极。

7.3.5 染色方法:酶显色板法。

7.3.6 染色液:参见附录 B 的第 B.8 章。

7.3.7 标准对照:

<i>Cs1</i>	a	F334/N	快带
<i>Cs1</i>	b	WKY	慢带

7.3.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.3.9 *Cs1* 电泳结果及模式图,见图 17。

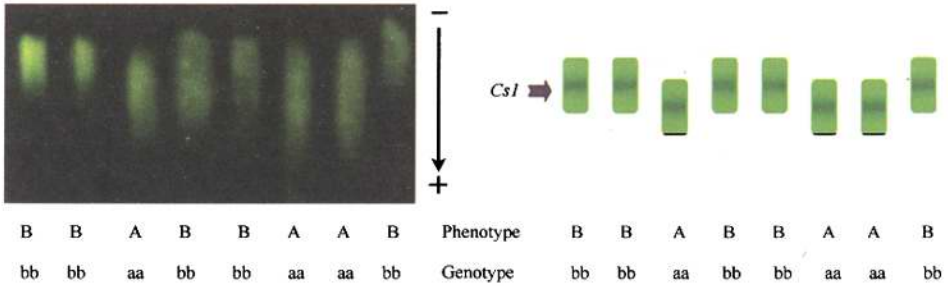


图 17 *Cs1* 电泳结果及模式图

7.4 酯酶-1 和酯酶-3(esterase-1, esterase-3, *Es1* 和 *Es3*)Chr. 19,11

7.4.1 样品:小肠组织匀浆,0.3 μL。

7.4.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.4.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。

7.4.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ ,  $t=35\text{ min}$ ,移动方向由负极至正极。

7.4.5 染色方法:琼脂覆盖法。

7.4.6 染色液:参见附录 B 的第 B.1 章。

7.4.7 标准对照:

<i>Es1</i>	a	F334/N	一条带
<i>Es1</i>	b	ACI	缺失带

<i>Es3</i>	a	F334/N	快带
<i>Es3</i>	b	SHR	最慢带
<i>Es3</i>	d	WKY	慢带

7.4.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.4.9 *Es1* 和 *Es3* 电泳结果及模式图,见图 18。

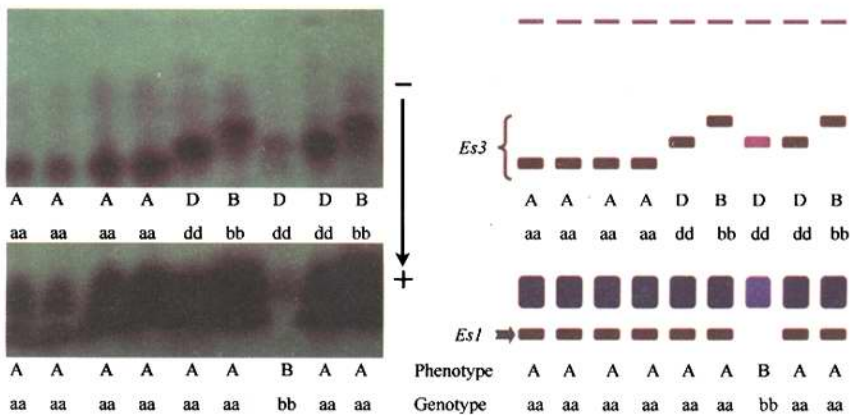


图 18 *Es1* 和 *Es3* 电泳结果及模式图



7.5 酯酶-4(esterase-4, *Es4*) Chr. 197.5.1 样品:肾匀浆, 0.3  $\mu\text{L}$ 。

7.5.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.5.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。

7.5.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ ,  $t=35\text{ min}$ , 移动方向由负极至正极。

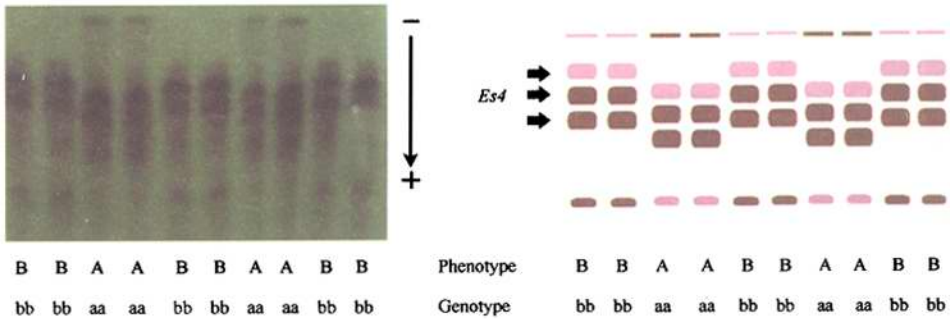
7.5.5 染色方法:琼脂覆盖法。

7.5.6 染色液:参见附录 B 的第 B.1 章。

7.5.7 标准对照:

<i>Es4</i>	a	SHR	三条快带
<i>Es4</i>	b	WKY	三条慢带

7.5.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.5.9 *Es4* 电泳结果及模式图, 见图 19。图 19 *Es4* 电泳结果及模式图7.6 酯酶-6,8,9(esterase-6,8,9, *Es6,8,9*) Chr. 8,19,197.6.1 样品:睾丸匀浆, 0.6  $\mu\text{L}$ 。

7.6.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.6.3 电泳支持物:醋酸纤维素板(硬膜)。

7.6.4 电泳条件: $U=200\text{ V}$ ,  $t=35\text{ min}$ , 移动方向由负极至正极。

7.6.5 染色方法:琼脂覆盖法。

7.6.6 染色液:参见附录 B 的第 B.1 章。

7.6.7 标准对照:

<i>Es6</i>	a	F344/N	快带
<i>Es6</i>	b	BN	慢带
<i>Es8</i>	a	BN	快带
<i>Es8</i>	b	F344/N	慢带
<i>Es9</i>	c	BN	快带
<i>Es9</i>	a	F344/N	慢带

7.6.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.6.9 *Es6,8,9* 电泳结果及模式图, 见图 20。

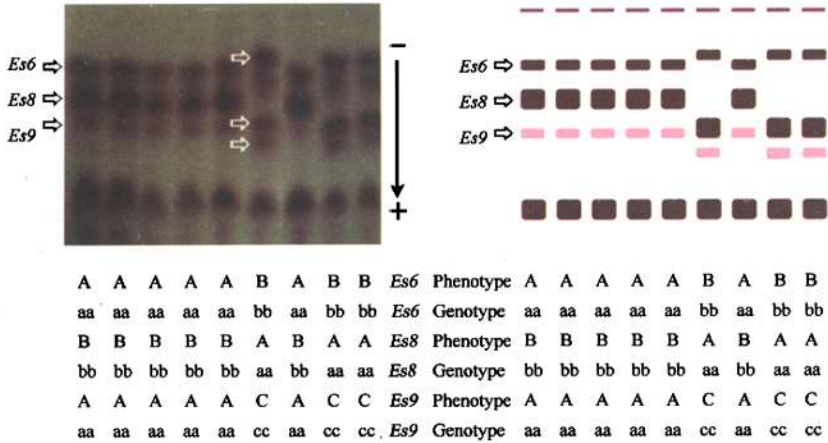


图 20 Es6, 8, 9 电泳结果及模式图

7.7 酯酶-10(esterase-10, Es10) Chr. 19

7.7.1 样品:肺匀浆, 0.6 μL.

7.7.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.7.3 电泳支持物:醋酸纤维素硬膜。

7.7.4 电泳条件:U=200 V, t=35 min, 移动方向由负极至正极。

7.7.5 染色方法:琼脂覆盖法。

7.7.6 染色液:参见附录 B 的第 B.1 章。

7.7.7 标准对照:

Es10	a	F344/N	三条慢带
Es10	b	BN	三条快带

7.7.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.7.9 Es10 电泳结果及模式图, 见图 21。

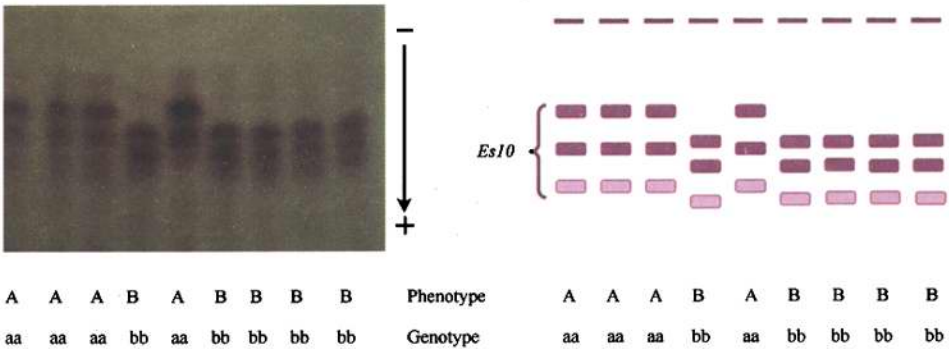


图 21 Es10 电泳结果及模式图

7.8 血红蛋白-β 链(hemoglobinβ-chain, Hbb) Chr. 1

7.8.1 样品:溶血素, 0.6 μL (溶血素:6 mol/L 尿素=1:3)。

7.8.2 缓冲液:Tris-EDTA-Borate pH 8.4 参见附录 A 的第 A.5 章。

7.8.3 电泳支持物:醋酸纤维硬膜。

7.8.4 电泳条件:U=200 V, t=35 min, 移动方向由负极至正极。

7.8.5 染色方法:蛋白染色法。

7.8.6 染色液:参见附录 B 的第 B.6 章。

## 7.8.7 标准对照:

Hbb	a	F334/N	两条带
Hbb	b	LEW/M	缺失一条带

7.8.8 判断方法:参照上述对照动物读出带型后与附录 D 作比较。

7.8.9 Hbb 电泳结果及模式图,见图 22。

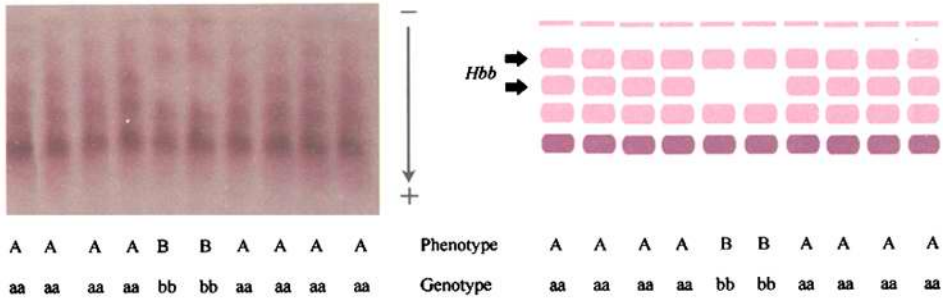


图 22 Hbb 电泳结果及模式图

## 8 近交系大、小鼠常规遗传监测判断标准

近交系动物具有纯合性,同基因性和个体性,因此送检动物每个生化标记的表型都应为纯合型;每个品系内个体间生化标记表型都应一致;经检测获得的生化遗传概貌应与原品系的生化遗传概貌相符。

依据近交系小鼠大鼠生化检测标记细则,完成检测并符合上述标准的近交系可视为经常规遗传监测未发现遗传变异的合格品系。

如果某些品系检测结果与上述标准不相符,应依据以下原则做出分析和处理(见表 2)。

表 2 遗传检测结果的分析与处理原则

位点类型	不相符的类型	可能发生变异的原因	处理意见
杂合型	多于一个位点	近期发生遗传污染	淘汰、重新引种
	一个位点	近期发生遗传漂变	再次送检
纯合型	多于一个位点	早期发生遗传污染	淘汰、重新引种
	一个位点	一个新的亚系 发生遗传突变已经固定	再次送检

再次送检时,动物应根据监测机构的要求选送。再次检测时如未发现带杂合型位点的动物,该品系可被视为合格的近交系品系,但应注明突变基因的名称,必要时参照实验动物遗传标准对品系的名称加以修订。如再次检测时仍发现带有杂合型位点的动物,该品系应予以淘汰,重新引种。

附录 A  
(资料性附录)  
缓冲液配方

A. 1	Acetate-EDTA	pH5.4(用时 1 : 4 稀释)	
	NaC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub>		10.60 g
	EDTA		2.48 g
	distilled water up to		1 000 mL
A. 2	phosphate buffer	pH7.0	
	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O		8.63 g
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		3.77 g
	distilled water up to		1 000 mL
A. 3	Tris-Citrate	pH7.6(用时 1 : 5 稀释)	
	Tris		12.10 g
	distilled water		600 mL
	10% Citrate acid	适量调至 pH7.6	
	distilled water up to		1 000 mL
A. 4	Tris-HCl	pH8.0	
	Tris		24.20 g
	distilled water		800 mL
	HCl 0.1 mol/L	适量调至 pH8.0	
	distilled water up to		1 000 mL
A. 5	Tris-EDTA-Borate	pH8.4	
	Tris		10.90 g
	EDTA		0.60 g
	boric acid		3.10 g
	distilled water up to		1 000 mL
A. 6	Tris-Glycine	pH8.5	
	Tris		3.00 g
	glycine		14.40 g
	distilled water up to		1 000 mL
A. 7	Tris-Glycine	pH8.9	
	Tris		5.16 g
	glycine		3.48 g
	distilled water up to		1 000 mL
A. 8	Tris-EDTA-Borate-MgCl <sub>2</sub>	pH7.6	
	Tris		1.81 g
	Na <sub>2</sub> EDTA		1.86 g
	boric Acid		0.33 g
	MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O		2.03 g

distilled water up to		1 000 mL
<b>A.9</b> Tris-Citrate	pH8.3	
Tris		16.64 g
citrate acid		4.20 g
distilled water up to		1 000 mL

**附录 B**  
(资料性附录)  
**染色液配方**

<b>B. 1</b>	$\beta$ -naphthyl acetate	10 mg
	acetone	0.5 mL
	fast blue RR salt	25 mg
	0.05 mol/L phosphate buffer(pH7.0)	9.5 mL
	过滤使用	
	2% agar	3 mL
<b>B. 2</b>	0.05 mol/L phosphate buffer(pH7.0)	3 mL
	umbelliferyl acetate	3 mg
	acetone	0.2 mL
	2% agar(热)	3 mL
	紫外监测仪下观察	
<b>B. 3</b>	0.2 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	2 mL
	0.25 mol/L $Mg(C_2H_3O_2)_2$	150 $\mu$ L
	10% D-fructose-6-phosphate disodium salt	150 $\mu$ L
	1% MTT	150 $\mu$ L
	1% TPN	150 $\mu$ L
	glucose-6-phosphate dehydrogenase	5IU
	0.25% PMS	150 $\mu$ L
	2% agar(热)	3 mL
<b>B. 4</b>	0.2 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	
	1% MTT	150 $\mu$ L
	1% TPN	150 $\mu$ L
	0.1 mol/L $MnCl_2$	50 $\mu$ L
	0.5 mol/L DL-malic acid(pH8.0)	600 $\mu$ L
	10% DL-isocitric acid trisodium salt	50 $\mu$ L
	0.25% PMS	150 $\mu$ L
	2% agar(热)	3 mL
<b>B. 5</b>	0.2 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	2 mL
	0.25 mol/L $Mg(C_2H_3O_2)_2$	200 $\mu$ L
	1% glucose-1,6-diphosphate	20 $\mu$ L
	10% glucose-1-diphosphate	200 $\mu$ L
	1% MTT	100 $\mu$ L
	1% TPN	150 $\mu$ L
	glucose-6-phosphate dehydrogenase	5IU
	0.25% PMS	100 $\mu$ L
	2% agar(热)	3 mL
<b>B. 6</b>	ponceau S	0.40 g
	trichloroacetic acid	6.00 g

salfosalicylic acid	6.00 g
distilled water	200 mL
<b>B. 7</b> 0.2 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	2 mL
0.25 mol/L $Mg(C_2H_3O_2)_2$	150 $\mu$ L
0.5 mol/L glucose-6-phosphate dehydrogenase	300 $\mu$ L
1% MTT	150 $\mu$ L
0.25% PMS	150 $\mu$ L
1% TPN	150 $\mu$ L
2% agar(热)	3 mL
<b>B. 8</b> 1% $FeCl_3$	4 mL
1% $K_3[Fe(CN)_6]$	4 mL
2% agar(热)	3 mL
电泳后将膜浸入 0.3% 的双氧水中 30 s,再用蒸馏水漂洗 2 遍后贴在 B8 酶显色板上。	
<b>B. 9</b> 烷化剂	
cystamine dihydrochloride	112.5 mg
1,4-dithiohreitol	5 mg
$NH_4OH$	25 $\mu$ L
distilled water	1 mL
<b>B. 10</b> 0.2 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	5 mL
$\beta$ -naphthyl acid phosphate	10 mg
fast blue BB salt	10 mg
0.2 mol/L $MnCl_2$	0.1 mL
2% agar(热)	3 mL
<b>B. 11</b> $\beta$ -naphthyl acid phosphate	10 mg
fast blue RR salt	10 mg
0.2 mol/L $MnCl_2$	0.1 mL
distilled water	5 mL
2% agar(热)	3 mL
<b>B. 12</b> 0.2 mol/L $NaH_2PO_4$ (pH7.5)	5 mL
L-leucyl-l-alanine	5 mg
peroxidase	2.0 mg
0.2 mol/L $MnCl$	0.1 mL
<i>o</i> -dianisidine dihydrochloride	0.2 mL
crotalus adamanteus venom	2.0 mg
<b>B. 13</b> 0.2 mol/L Tris-HCl(pH8.0)	5.0 mL
$\beta$ -naphthyl phosphate disodium salt	5.0 mg
fast blue RR salt	8.0 mg
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	6.0 mg

附录 C  
(资料性附录)

常用近交系小鼠生化位点标记基因

常用近交系小鼠生化位点标记基因见表 C.1。

表 C.1 常用近交系小鼠生化位点标记基因

Loci Strain	Akp1	Car2	Ce2	Es1	Es3	Es10	Gpd1	Gpi1	Hbb	Idh1	Mod1	Pgml	Pep3	Trf
A/-	b	b	a	b	c	a	b	a	d	a	a	a	b	b
AKR/-	b	a	b	b	c	b	b	a	d	b	b	a	b	b
C3H/He	b	b	b	b	c	b	b	b	d	a	a	b	b	b
C57BL/6	a	a	a	a	a	a	a	b	s	a	b	a	a	b
CBA/J	a	b	b	b	c	b	b	b	d	b	b	a	b	a
CBA/OLa	b	a	b	b	c	b	b	b	d	b	b	b	b	a
BALB/c	b	b	a	b	a	a	b	a	d	a	a	a	a	b
DBA/1	a	a	b	b	c	b	a	a	d	b	a	b	b	b
DBA/2	a	b	a	b	c	b	b	a	d	b	a	b	b	b
615	a	a	b	b	c	a	b	a	s	a	b	b	a	b
TA1/TM <sup>a</sup>	b	b	b	a	c	b	b	b	s	a	b	a	c	b
TA2	b	a	b	b	c	a	b	b	d	a	b	b	b	b
TW	b	a	a	a	b	c	c	a	p	b	a	b	b	b

<sup>a</sup> 为 TA1 的天医突变系。



## 附 录 D

(资料性附录)

## 常用近交系大鼠生化位点标记基因

常用近交系大鼠生化位点标记基因见表 D.1。

表 D.1 常用近交系大鼠生化位点标记基因

Loci Strain	Akp1	Alp	Cs1	Es1	Es3	Es4	Es6	Es8	Es9	Es10	Hbb
F344/N	a	b	a	a	a	b	a	b	a	a	a
LOU/C	a	b	a	a	a	b	b	b	a	a	a
SHR	a	a	b	a	b	a	a	b	a	a	a
WKY	b	b	b	a	d	b	a	a	c	b	a
LEW/M	a	b	a	a	d	b	a	b	c	a	b
ACI	b	b	a	b	a	b	b	b	a	a	b
BN	a	b	a	a	d	b	b	a	c	b	a