

# GENETIC STABILITY PROGRAM (GSP)

## 遗传稳定性保障体系

### 限制小鼠遗传漂变，保障实验数据可重复性

#### 摘要

遗传漂变可以发生在所有小鼠种群中，并且可能对实验数据的可重复性及其研究结论产生负面影响。由遗传漂变引起的自发突变通常都不会被意识到和关注，直到若干年后的研究课题碰巧与这种突变相关时，人们才意识到这些自发突变。

遗传漂变虽然不能被完全阻止，但我们可以通过细致周密的种群管理过程，将遗传漂变对实验数据及研究结论的负面影响尽可能地降低。由于每个小鼠种群的规模和管理规范不同，因此使用完整准确的小鼠品系命名，包括对亚系命名标识，将非常有必要。

#### 遗传稳定性对小鼠研究的重要性

对大多数生物医学研究人员而言，小鼠的遗传背景可能是实验结束后才考虑的事，也可能根本不去考虑。研究人员的首要任务通常是了解疾病，发表论文和获取经费。但是，为了通过小鼠顺利完成这些目标，维持小鼠的遗传稳定性（或防止遗传漂变）则变得至关重要了。

实验小鼠是科学研究过程中唯一有生命的环节，小鼠自身变化贯穿其生命周期，更重要的是繁育过程中小鼠的遗传变化。毕竟，DNA 序列的可遗传变化是大自然物种多样性和物种进化的基础。即使在没有进化压力的情况下，DNA 序列也会发生变化。虽然这些突变似乎是微不足道的，不会对小鼠个体遗传稳定性构成重大的波动。然而，这些看似微不足道的突变可能是造成许多无法解释的不可重复实验数据和研究结论的根源。

因此，使用小鼠的研究人员遇到了一个难题。

科研实验使用的小鼠需要进行繁育，伴随繁育过程，遗传多样性的风险随之而来，导致实验结果不可重复。从一个实验到下一个，从一篇论文到下一篇，实验数据如果不可重复，将不利于科学的进步。

本文的目的是让使用小鼠的研究人员认识到遗传漂变对研究结论的潜在影响，了解控制遗传漂变的理想方法，以及为他们在小鼠群体已经发生漂变的情况下，提供解决方案来逆转这些突变。研究人员可以遵循一些简单的原则，来提高实验可重复性，提高其研究结论的科学性，比如在发表论文和项目资助申请中使用正式的完整小鼠品系命名和对繁育代数信息进行详细描述。

## 遗传漂变的产生以及在小鼠种群中的普遍性

近亲或兄妹繁育是一种很好的小鼠繁育方法，可以减少小鼠基因组中各遗传基因位点的杂合性，实现表型上的一致性，从而为实验数据的可重复性打下很好的基础。遗传上的纯合性让我们可以比较对照组和实验组之间的单个变量，且能够将测量得到的任何差异归因于该变量。

与自然情况下非常相似，两个相互隔离的近交系鼠群也会随时间变化而变化。在 DNA 复制和减数分裂期间，自发突变可能是单核苷酸多态的形式 (SNPs)，也可能是缺失 -- 倒位 -- 重复和其他类似的错误形式。这种自发突变在小鼠种群中随机出现，消失或逐渐固定的过程被称为基因遗传漂变 (Lee Silver, 1995)。

遗传漂变在不同的小鼠种群中发生程度不同，但相当普遍和频繁。小鼠每代之间间隔通常为 3-4 个月，小鼠出生后 5-8 周龄时性成熟。后代通常在交配后约 3 周出生。根据 100 多万只小鼠的毛色突变观察结果，科研人员计算出自发突变率为：每 1.8 代就可产生 1 个表型突变。(Drake et al., 1998; Russell and Russell, 1996)

在总数少的小型种群中，随机选择到生殖细胞携带自发突变的风险更高，因此在该种群中这种突变扩散的风险就更大。对于任何小鼠生殖细胞基因突变，其后代中大约有一半将是该突变的杂合子 (图 1B)。在近交系小鼠种群中，这些突变有 25% 的可能性在种群中被固定下来 (即形成纯合) (Chamary and Hurst, 2004; Drake et al., 1998)。

A

大型鼠群



小型鼠群



B

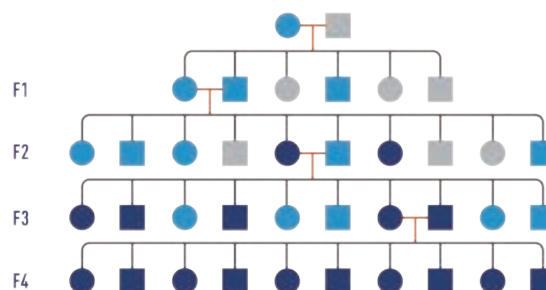


图 1. 累积自发突变的风险在小型鼠群中比在大型鼠群中高。A) 使用携带任何既定突变 (浅蓝色) 的小鼠进行繁育的概率在小型鼠群中比在大型鼠群中更高。B) 在每代繁育中，新突变在该鼠群中发生的概率有 25%。例如，孟德尔定律预测 F1 代将由 50% 的野生型 (灰色) 和 50% 的杂合子组成 (浅蓝色)。如果使用 2 个杂合子作为繁育对，F2 代将由 25% 野生型，50% 杂合子和 25% 纯合子 (深蓝色) 组成。这一趋势可以持续到突变在整个鼠群被固定，成为突变的纯合子 (F4)。然而，由于用于繁育的小鼠基因型的不同，基因组可以向两个方向漂移 - 突变被固定的概率与其从群体中完全丢失的概率相当。

## 遗传漂变的证据：小鼠亚系

小鼠亚系是近交系的一个分支，预计或已知其与亲本群体在基因型上有所不同 (<http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/strains.shtml#substrains>)。

因为遗传漂变可能在任何两个近交系鼠群中分别发生，所以亚系命名也是小鼠品系命名法的一个重要组成部分。亚系的命名是通过添加由实验动物研究所 (ILAR) 指定的唯一实验室代码来确定的 (<http://dels.nas.edu/global/ilar/Lab-Codes>)。这一代码标出了构建和维系该小鼠品系的研究所、实验室和研究者 (表 1)。这样实验室代码在品系的命名中被不断加入，因此，仅从品系名称就可以理解该品系的谱系。例如小鼠品系 C57BL/6NJ 在美国国立卫生研究院 (N) 保存多年，现在由杰克森实验室 (J) 负责繁育 (图 3)。由于亚系的名称被不断的更新，通过亚系命名我们就可以识别两个品系之间的遗传差异。

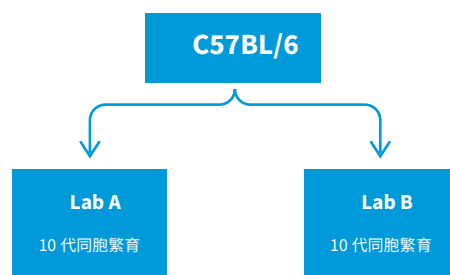
实验室代码	组织机构
CrI	Charles River 实验室
Hsd	Envigo (前身 Harlan 实验室)
J	杰克森实验室
N	国立卫生研究院
Rj	RJ 中心
Tac	Taconic Farms 股份有限公司

**表 1.** 实验小鼠亚系命名法中常见的实验室代码。实验动物研究所 (ILAR) 为创建和维系小鼠种群的研究所，实验室或个人研究者指定了唯一的代码。

## 预计遗传差异：传代次数

任何与亲本品系分开后连续 20 代同胞兄妹交配的品系 (约 5-6 年) 都会产生遗传差异，可被认为是一个亚系。此外，繁育代数是可叠加累积的，因此如果两个实验室从相同的亲本获得小鼠并且独立繁育 10 代，那它们就形成了彼此不同的亚系。这是因为这两个品系可被认为是相隔了 20 代 (图 2)。

用于生物医学研究的第一批近交系小鼠品系 (包括 C57BL/6, DBA, C3H, BALB, CBA 等) 大约在 100 年前繁育得到，并且它们现在仍在文献中大量出现。由于有超过 200 个近交品系，并且全世界有多个机构在繁育它们，因此随着时间的推移，所有这些品系都有大量的遗传漂变发生。由于遗传漂变，使用现有亚系得到的实验结果可能与使用亲本近交系得到的实验结果不同。



**图 2.** 亚系构建。亚系在连续 20 代近亲繁育后生成。虽然实验室 A 和 B 各自只有 10 代繁育代数，但实验室 A 和 B 彼此已经分开了 20 代。将实验室代码加入到品系名称可以判断在一个亚系中是否发生了遗传漂变。

## 已知的遗传差异：通过观察到的表型差异来发现亚系

当在两组近交小鼠之间观察到表型差异时，即可发现亚系。然而，除非这些自发突变表现出明显的表型差别（通常是在群体中形成稳定纯合之后）并且细心的饲养人员或研究人员关注到小鼠的“表型异常”，否则这些突变可能被隐藏在同一品系中多年而未被注意到。因此，遗传漂变的确往往是由于某个实验研究的课题恰好与这一突变相关而被注意到。研究人员认识到“意外的结果”并不是“失败的实验”，随后即发现自然突变是造成表型异常的原因。

例如，亲本近交系 C3H 在两名 JAX 研究人员的繁育下产生了两个亚系，而多年来这两个亚系看上去并没有什么区别。Dr. Walter Heston 在 1930 年代获得了该品系（现在的 C3H/HeJ）。在 1952 年，Heston 将他的一些小鼠转移给 JAX 的另一位研究者 Dr. Henry Outzen（现在的 C3H/HeOuJ）。到 1960 年代后期，Heston 繁育的品系被发现对脂多糖（LPS）具有耐药性，而 Outzen 的品系仍然对 LPS 敏感。后来，该突变被定位于 Tlr4，其是一种参与病原体识别和先天免疫系统激活的基因 (Poltorak et al., 1998a; Watson et al., 1978)。当 Tlr4 第 2342 位核苷酸的 C 到 A 突变被识别时，它已经在 Heston 亚系中稳定遗传。固定的过程很可能发生在 1958 年至 1965 年之间 (Poltorak et al., 1998b)。如果当时 Heston 的 C3H 亚系没有被用于 LPS 处理，那么 Tlr4 突变可能至今仍未被发现，将这些品系得到的免疫学结论混杂会使研究的其可信度大打折扣。

**表 2.** 在小鼠亚系命名法中常见的实验室代码。实验动物研究所 (ILAR) 为创建和维系小鼠种群的研究所，实验室或个体研究者指定唯一的代码。

## 已知的基因组序列是具有亚系特异性的

除了偶然发现之外，确定是否发生了遗传漂变的唯一方法是对品系基因组进行测序，并与参考基因组进行序列比较。C57BL/6J 雌性小鼠是第一个被小鼠基因组测序联合会完全测序的小鼠模型 (Chinwalla et al., 2002, www.ensembl.org/Mus\_musculus)。迄今为止，已有 15 种其他主要近交小鼠品系被完全测序。所有这些品系都是所谓的“J”亚系，“J”即杰克森实验室 JAX 的官方 ILAR 实验室代码 (Adams et al., 2015), www.ensembl.org/Mus\_musculus/Info/Strains) (表 2)。

小鼠品系全名	JAX 品系号	完全测序	MPD 数据	受 GSP 保护
C57BL/6J	000664	Y	237	Y
129S1/SvImJ	002448	Y	133	Y
A/J	000646	Y	177	
AKR/J	000648	Y	114	
B6.129P2-ApoE <sup>tm1bc</sup> /J	002052	Y	7	Y
BALB/cJ	000651	Y	93	
BALB/cByJ	001026		118	Y
C3H/HeJ	000659	Y	158	Y
C57BL/6NJ	005304	Y	2	Y
CAST/EiJ	000928	Y	97	
CBA/J	000656	Y	110	Y
DBA/1J	000670		36	Y
DBA/2J	000671	Y	166	Y
FVB/NJ	001800	Y	133	Y
LPJ	000676	Y	84	
NOD/ShiLtJ	001976	Y	106	Y
NOD.CB17-Prkdc <sup>scid</sup> /J	001303	Y	8	Y
NZO/HILtJ	002105	Y	49	
PWK/PhJ	003715	Y	43	
SPRET/EiJ	001146	Y	34	
WSB/EiJ	001145	Y	67	

另外有 20 多个近交系的基因组已通过 SNP 检测对 C57BL/6 亚系进行测序，以识别其相对于 C57BL/6J 小鼠基因组的 SNP 插入 / 缺失和结构变化 (Frazer et al., 2007 and [www.sanger.ac.uk/science/data/mouse-genomesproject](http://www.sanger.ac.uk/science/data/mouse-genomesproject)) 。

此外，在小鼠表型数据库 (MPD) 中可以找到并比较特定亚系的已知 SNP 数据。对于常用的小鼠品系，MPD 提供了 (通过合作共享) 标准化的基因型和表型数据库。 (<http://phenome.jax.org>) 。

## 遗传背景可影响研究结论

上述 C3H 案例告诉我们，亚系存在的自发突变可能会对研究结论带来负面影响。如果没有适当的实验对照组，例如没有使用适当的亚系，造成实验数据的不可重复将是灾难性的结果。这些自发突变可能是在资源库、供应商或是实验室中产生的，那么研究人员如何才能知道哪个亚系是“适合”他们实验的呢？

遗憾的是，该问题没有一个简单的答案。确定遗传背景是否对结果有影响的理想方法是用对照组平行实验来进行比较。因为我们无法对已有的每个亚系做测试来获得一项特定的实验数据。理解遗传背景对研究结论的潜在影响的另一个方法是查阅其他研究人员在已发表文献中报道的结果，并继续使用相同的亚系来进行相关研究。

**表 3.** 被广泛使用的 C57BL/6 亚系常见于各类文献。在发表文章时，以下是针对 Pubmed 数据库中各个 C57BL/6 亚系的关键词，并记录了相应的参考文献的数量。

## C57BL/6 亚系

所有近交小鼠品系都存在亚系间的差异。到目前为止，C57BL/6 品系仍是全球已发表文献中非常常见的品系，在 PubMed 中可找到超过 37,000 篇已发表文献使用这一品系 (表 3)。因此，这里将重点关注在 C57BL/6 品系中已报道的差异。

如今已有超过 16,000 篇文献使用 JAX 初代 C57BL/6J 亚系。也有其他文献使用了源自初代 C57BL/6J 衍生的亚系。大约 1,200 篇文献使用由 C57BL/6N 衍生出的亚系。在未来几年，C57BL/6N 亚系的使用率预计将有显著增长，因为通过国际小鼠基因敲除联合项目 (IKMC)，小鼠基因组中的所有 20,000 个基因都最终将在 C57BL/6N ES 细胞中进行研究 (<http://www.mousephenotype.org/>) 。

小鼠品系名	已发表文献数量
C57BL/6	37122
C57BL/6ByJ	112
C57BL/6J	16390
C57BL/6J0laHsd	53
C57BL/6JBomTac	11
C57BL/6JRj	7
C57BL/6N	1182
C57BL/6NCrl	71
C57BL/6NJ	11
C57BL/6NHsd	41
C57BL/6NTac	78



一些已发表文献证明了由于遗传漂变，J 和 N 亚系之间存在着可遗传的表型差异。根据具体研究问题的不同，某些亚系可能优于其他的亚系 (Bryant, 2011) 。这里列出了一些例子：

与 C57BL/6N 亚系相比，C57BL/6J 小鼠表达 Nnt 基因突变。这一基因参与血糖介导的肾上腺素分泌 (Freeman et al., 2006)。

C57BL/6J 小鼠对酒精有很强的偏好，而 C57BL/6NCr1 小鼠则没有这种偏好 (Mulligan et al., 2008) 。比较这些亚系的数量及性状基因定位研究可以更好地理解涉及酒精成瘾的基因。

C57BL/6N 亚系含有视网膜变性等位基因 Crbrd8 ，而 C57BL/6J 亚系携带的是野生型等位基因 (Mattapallil et al., 2012) 。

C57BL/6J0laHsd 小鼠是自发缺失编码  $\alpha$  突触核蛋白和多聚蛋白 -1 的基因的纯合子 (Specht and Schoepfer, 2001, 2004) 。虽然  $\alpha$  突触核蛋白在帕金森病患者的神经系统中大量表达，但 C57BL/6J1alaHsd 亚系的缺失突变似乎不会导致朊病毒介导的突触毒性 (Asuni et al., 2010) ，而可能对运动神经元的变性有广泛影响 (Pelkonen and Yavich, 2011; Peña-Oliver et al., 2012) 。与 C57BL/6J 和 C57BL/6JRccHsd 亚系相比，C57BL/6J0laHsd 小鼠的骨密度有所降低 (Liron et al., 2017) 。

C57BL/6NHsd 小鼠携带的 Dock2 突变可影响 B 细胞信号通路和免疫耐受，而这在其他主要 C57BL/6 亚系上并未发现 (Mahajan et al., 2016) 。

这是最新案例：由于在研究过程中使用了 2 个不同的 C57BL/6 亚系来得到相关的结论，某实验室的研究进展倒退了大约 10 年。 ([www.jax.org/newsand-insights/jax-blog/2016/may/why-it-took-2-years-for-a-harvard-research-lab-to-getbackto-research](http://www.jax.org/newsand-insights/jax-blog/2016/may/why-it-took-2-years-for-a-harvard-research-lab-to-getbackto-research)) 。他们早期的研究使用的是未确定的 C57BL/6 亚系作为背景来构建 Siae 基因敲除的小鼠 (Cariappa et al., 2009) 。Siae 基因相关研究最初发表于 2009 年，被认为有助于 B 细胞的发育和信号传导。Siae 突变小鼠后来被回交到 JAX 提供的 C57BL/6J 亚系。令人惊讶的是，使用 C57BL/6J 小鼠进行的实验不能重复该实验室之前发表文章的结论 (Mahajan et al., 2016) 。经过几年对多个市售 C57BL/6 亚系的进一步分析，实验室研究人员发现基因 Dock2 的拷贝数突变在 C57BL/6NHsd 小鼠品系中自发产生。Dock2 才是实际影响 B 细胞功能的突变。这个例子应该作为一个警示性的故事来告诫我们应当监控和弄清研究中使用的所有小鼠的来源。由于遗传漂变，近交系小鼠的亚系不应被互换使用。

特请注意，除了具体的研究问题之外，由于遗传漂变而产生的自发突变对表型的效应可能还取决于其实验方法和具体步骤。例如，与野生型 Nnt 相比，C57BL/6J 的 Nnt 突变在体外实验中表现出胰岛素分泌减少 (Freeman et al., 2006) 。而在另一项研究中，用 C57BL/6J 和 C57BL/6NTac 亚系进行体外或体内检测，他们的胰岛素分泌没有显著差异 (Wong et al., 2010) 。此外，Nnt 突变的情况并不能简单将饮食诱导的肥胖和胰岛素响应性来进行关联，因为这还可能取决于饮食中的脂肪含量 (Nicholson et al., 2010) 。类似地，喂食低脂食物的两个 J 亚系 (J, JWehi) 和四个 N 亚系 (NTac, NHsd, NCrl, NJ) 被发现对葡萄糖处理表现出相似的胰岛素分泌情况。然而，当喂食高脂肪食物时，C57BL/6NJ 亚系显示出对葡萄糖处理的低胰岛素响应。这一点是不能通过 Nnt 是否突变、体重增加、脂肪量、食物摄入或  $\beta$  细胞面积的差异来解释的 (Hull et al., 2017) 。

C57BL/6 亚系之间存在其他多项已报道的差异。有文献已经报道了一系列行为上的差异，例如恐惧、焦虑、疼痛和对安非他明的反应等（总结如下 Bryant et al.,2008）。更广泛地讲，在许多其他基础指标上它们都存在差异。以下是一个具体例子：欧洲小鼠疾病诊所联合会（EUMODIC）的四个独立的中心对 C57BL/6J 和 C57BL/6NTac 亚系的 413 个参数进行了详细的标准化表型鉴定和比较 (Simon et al., 2013)。从四个表型鉴定中心的结果来看，J 和 NTac 小鼠在多个方面存在差异，包括惊恐反应、运动活动、肢体力量、心血管特征、代谢参数和临床化学化验。

对于 NHsd，NCrl，NJ 等亚系，人们发现在低脂肪饮食时，它们对葡萄糖处理具有相似的胰岛素响应情况。然而，当喂食高脂肪食物时，C57BL/6NJ 亚系显示出对葡萄糖处理的低胰岛素响应。这一点是不能通过 Nnt 是否突变、体重增加、脂肪量、食物摄入或  $\beta$  细胞面积的差异来解释的 (Hull et al., 2017)。

综上所述，遗传背景是实验设计时需要考量的一个重要因素，因为它可能很大程度上影响实验数据的可重复性和实验过程中所观察到的现象。令人担忧的是，在 PubMed 中针对“C57BL/6”的将近 37,000 篇已发表的文献中，大多数都没有标明亚系。

## 遗传背景可影响研究结论

遗传漂变影响所有的小鼠种群。然而，有许多有效措施可以限制遗传漂变的发生，非常有效地减少漂变对实验数据可重复性的影响。这些措施包括使用适当的小鼠品系命名法，完善的繁育方案和冷冻保种等。以下是限制遗传漂变的有效措施。

## 准确命名和详细记录

使用完整准确的小鼠品系命名法来消除不确定性，并明确研究使用的是哪一个特定亚系。

在日常管理中，使用彩色的，带有完整亚系命名的打印标签。同时也在鼠笼信息卡和实验记录本上使用完整的亚系命名。打印标签可以减少手写错误，提高命名的规范和一致性。在实验动物较多的动物房，使用不同颜色的标签或鼠笼信息卡尤为重要，因为在这些动物房中可能会有命名和外观都相似的小鼠品系。

在实验室组会演示幻灯片时练习使用准确的命名。当这些数字和数据日后见于海报、讲座、发表文献和项目申请书时，这些原本随意的“非官方”内容将成为“正式的”发表文章来分享正确的科学信息。



在发表文献和基金申请中，在第一次提到品系时，使用完整的包括亚系名称的命名，在文本和图中使用缩略的品系名（“以下称为……”）。在实验方法描述中，使用完整的命名和亚系命名。确定品系的来源，包括实验室名称，研究所或供应商以及品系的货号。列出繁育代数和繁育方案（见下文）。有关进一步的建议，请参阅 ARRIVE 指南 ([www.nc3rs.org.uk/arriveguidelines](http://www.nc3rs.org.uk/arriveguidelines))。

## 近亲繁育，谱系记录和繁育代数

近亲繁育可以让我们很快地鉴别繁育小鼠种群中的异常表型。谱系记录可以让我们很容易地移除受影响和可能受影响的近交系小鼠（图 4）。繁育代数可以让我们快速地了解繁育小鼠种群中遗传漂变的潜在风险。

**近亲繁育** - 同胞兄弟姐妹小鼠间交配。

**谱系记录** - 小鼠交配繁育过程中必须准确记录使用的母本（雌性）和父本（雄性）。如果有两个或更多的谱系，不要将一个谱系的小鼠繁育对与另一个谱系的小鼠的繁育对混淆。

**繁育代数**

N = 回交代数

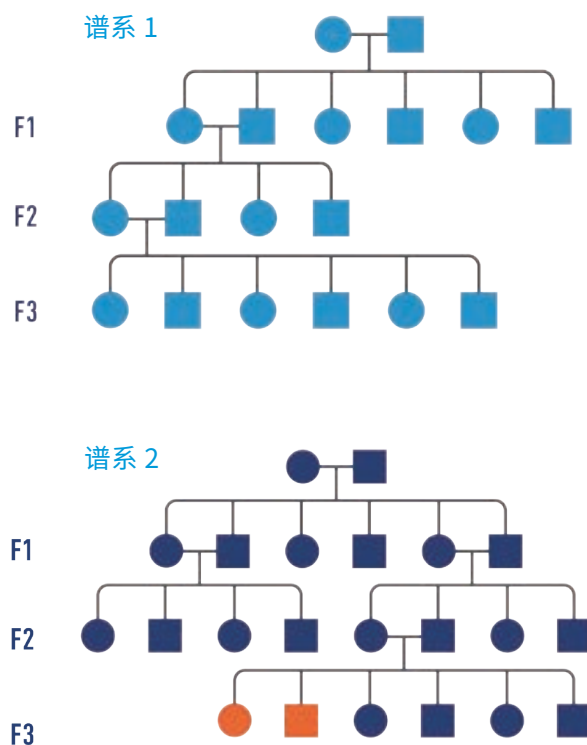
F = （同窝姊妹 X 兄弟）繁育代数

p = 冷冻保种

+ = 区分来到一个实验室之前和之后的繁育信息

? = 繁育代数未知

例如，“N6F12+F8” 品系表明：该品系有回交 6 次；同窝兄弟姐妹繁育 12 代；然后被转移到另一个实验室；在那里又同窝兄弟姐妹繁育了 8 代。由于亚系来自 20 代连续近亲繁育，这种情况下遗传漂变可能已经发生，因此更新该小鼠种群的遗传背景就是明智的选择。



**图 4.** 在同一个谱系里用姐妹/兄弟小鼠近亲繁育（圆形—方形，1 雄 1 雌或 1 雄 2 雌）。如有两个或更多的谱系（浅蓝色与深蓝色），不要将谱系不同的繁育对小鼠混淆在一起。如果在一个谱系中出现异常表型（橙色），我们可以很容易识别和移除受影响的个体，然后将未受影响的谱系（谱系 1，浅蓝色）分成 2 个新的谱系，因此不用浪费时间来重建种群。

## 数据收集和定期评估

除了进行规范的种群管理，还应该定期观察小鼠品系的所有表型变化。就遗传漂变而言，“表型的改变”是所有可观察或可测量的指标：例如小鼠的外表、行为、繁育表现、其他实验参数和指标。确定遗传漂变依赖于饲养人员和研究人员是否能首先注意到表型变化，然后再采取措施解决漂变问题。

对于某些小鼠品系，与基准特征比较可能会更有效。小鼠表型数据库或许有此类信息，可以通过品系或表型来进行搜索。这一数据库还包括有齐全的数据收集方案 ([http:// phenome.jax.org](http://phenome.jax.org)) (表 2)。

如果某一小鼠种群的表型发生了变化，遗传漂变就是需要考察的诸多潜在变异来源之一。需要考虑几个问题：

有多少只小鼠受影响？可以追溯到任何特定的饲养笼或谱系吗？

该小鼠种群在这个饲养房里繁育了多少年或多少代？

最后一次“遗传背景更新”是什么时候？（见下文）当时使用小鼠的来源是？

如果没有详尽完整的繁育工作记录或相关数据，就不可能确定表型是否发生了变化。

## 更新遗传背景

经过 5 至 10 代近亲繁育后，应该“更新”小鼠种群，以去除或防止该小鼠种群的遗传漂变的累积。刷新遗传背景的方法有以下几种：

**回交。**基因工程突变小鼠品系 (GEMM) 可回交到适当的近交系或杂交小鼠来消除遗传漂变，这些小鼠品系必须是从值得信赖的资源库或供应商购买得到的。应该同时通过雄性和雌性小鼠进行回交，以确保两种性染色体也都得到更新。如果该品系（杂合或半合子）已在同野生型杂交，则应当使用直接来自供应商的近交小鼠作为野生型育种小鼠来“更新”遗传背景。当标记传代次数时，每轮回交或更新则添加“N”（参见上面的“近亲繁育、谱系记录和传代次数”）。

**购买新的繁育对。**对于近交品系，应该直接从可信赖的资源库或供应商处购买新的繁育对来重建小鼠种群。资源库或供应商必须有相应的方案来控制其小鼠种群的遗传漂变。

**通过冷冻保存的精子或者胚胎进行冷冻复苏。**阻止遗传漂变的唯一方法是停止繁育小鼠。不常用和特殊的小鼠品系应始终以精子或胚胎的形式冷冻保存，以防止遗传漂变，品系丢失，减少动物使用和维系并减少成本。这些冷冻保存的精子或胚胎可用于恢复发生了漂变、繁育错误、因疾病或自然灾害而丢失的种群。

## 验证遗传背景

进行全基因组扫描以确定遗传污染的风险。全基因组扫描或 SNP 检测可以区分高度相似的亚系，例如 C57BL/6J 与 C57BL/6N。

全基因组测序。SNP 检测不能识别小鼠种群的遗传漂变。了解品系是否发生遗传漂变的唯一方法是进行全基因组的完全测序并与参考序列进行比较。

## 限制遗传漂变的有效方法

如果遗传漂变可以发生在所有小鼠种群中，那么小鼠资源库或供应商的种群也就有着漂变的风险。为什么实验室可以通过在小鼠资源库或者供应商那里购买用于种群更新的小鼠呢？

首先，小鼠资源库和供应商的小鼠种群数目要大得多，这些大型种群的遗传漂变概率的要小得多（图 1A）。此外，许多小鼠资源库和专业供应商对其小鼠种群实施了控制遗传漂变的专业措施，例如使用完整的命名法，进行了谱系 / 限定繁育和冷冻保种。

为了评估 JAX 所有的大型种群的遗传漂变，我们对相隔 69 代（19 年连续育种）的 C57BL/6J 小鼠进行了测序。在两小鼠之间，我们鉴定了 669 个特异的 SNP 位点。在这些 SNP 位点中，有 7 个是由于氨基酸序列或 RNA 剪接位点发生改变。因此，每 10 代中，就会有一个突变发生并可能影响蛋白质功能（7 个 SNP/69 代），这还不包括更大的基因组变异，例如缺失，反转和重复。它们可能具有更大的表型改变。考虑到研究生或博士后在实验室的平均工作周期可以达到 5 年，而课题组负责人的研究生涯则可能达到 20 年或更长时间，并且整个科学研究是无止尽的，所以小鼠种群很有可能在这个过程中发生了明显的遗传漂变。JAX 小鼠资源库在过去几十年里将小鼠发放到世

界各地，以便让研究人员使用上可以产生可重复实验结果的、具有稳定基因组的小鼠，在这个过程中怎样尽可能地控制遗传漂变就成了很大的挑战。

JAX 通过多种措施来保护小鼠品系免受遗传漂变的累积影响。对于实验室代码为“J”的所有品系，针对它们的繁育和维护都实施了一个或两个旨在限制和检测遗传漂变的方案：遗传稳定性保障体系 (GSP) 和遗传质量控制体系 (GQC)。以“J”命名的品系包括由杰克森实验室总部进行分发和繁育的品系，以及由欧洲和日本的 Charles River 实验室繁育和分发的品系。为了保持不同地点小鼠品系质量的一致性，它们所遵从的管理规范由 JAX 定期监测和审查批准。这包括使用相同基因型的冷冻保存胚胎来定期更新现有的小鼠种群（下文使用 GSP 缩写）或完全重建全新的繁育鼠群。总之，这些措施的执行有效地防止了亚系的产生。

## 常用“J”近交品系的遗传稳定性保障体系

对于常用的“J”近交品系，JAX 实施了特殊方案来进行小鼠种群维系，积极主动地消除遗传漂变的累积所带来的影响。美国专利和商标局在 2009 和 2012 年度授予 JAX 遗传稳定性保障体系 (GSP) 专利权 (Wiles et al., 2009,2012, [https:// www.jax.org/jax-mice-and-services/find-and-order-jax-mice/why-jaxmice/patentedgenetic-stability-program](https://www.jax.org/jax-mice-and-services/find-and-order-jax-mice/why-jaxmice/patentedgenetic-stability-program))。被 GSP 保护的 J 品系以胚胎的形式冷冻保存，用这些冷冻胚胎定期补充核心群，以限制遗传漂变的累积。

如果没有 GSP 专利，核心种群的维护只能通过简单的同胞兄弟姐妹小鼠之间的繁育。每年大约有两到四次，新的近交系繁育对将被挑选出来，作为新的起始繁育对来重新建立新的小鼠种群。使用近交繁育方法，由于遗传漂变，今天的核心群将与几年后的核心群在遗传背景上有很多不同。

而在 GSP 专利中，使用低温冷冻保存的小鼠胚胎，它们的谱系可追溯到同一个核心群。每隔 5 代通过将冷冻胚胎进行复苏来重建核心群。用从冷冻保存的胚胎中复苏的小鼠定期重建核心群可以减少一定时间内的繁育代数。因此，在 GSP 专利中，“J”近交品系得到良好的保护，可避免跨空间的遗传漂变（在不同地域的饲养场所），而且更重要的是，也避免了因时间跨度而产生的遗传漂变（表 3）。

## 遗传质量控制体系 (GQC, Genetic Quality Control)

除 GSP 保障之外，所有“J”品系均通过遗传质量控制体系（GQC）进行维系 (<https://www.jax.org/jaxmice-and-services/findand-order-jax-mice/whyjax-mice/genetic-quality-controlprogram>)。该 GQC 体系集成了许多经典的种群管理做法，个别实验室有参考使用过，包括非常严格的问责制度。

专业的动物护理人员必须接受严格的培训包括如何识别表型变异，如毛色、不寻常的体型、体重、骨骼结构、行为、生殖表现、肿瘤易感性和寿命。进一步关注偏离特定品系预期特征的任何小鼠，进而根据 GQC 工作记录进行追溯和谱系排查。

另外，核心群的谱系同用于扩增和分发鼠群的谱

系是分开的。通过先前报道的 SNP 检测（Petkov et al., 2004），我们可以定期检测核心群的遗传异常和监控可能的遗传污染。

## 结束语

遗传漂变会发生在所有小鼠种群中，并且可能对研究结论和可重复性产生深远影响。虽然遗传漂变不能完全消除，但是实验室和大型小鼠资源库和供应商可以通过种群管理策略以保障小鼠种群的遗传稳定性。实验数据的可重复性和科学发现需要依赖于详细的谱系记录，完整的小鼠亚系命名和配种繁育信息。

## 参考文献

- Adams, D.J., Doran, A.G., Lilue, J., and Keane, T.M. (2015). The Mouse Genomes Project: a repository of inbred laboratory mouse strain genomes. *Mamm. Genome Off. J. Int. Mamm. Genome Soc.* 26, 403–412.
- Asuni, A.A., Hilton, K., Siskova, Z., Lunnon, K., Reynolds, R., Perry, V.H., and O'Connor, V. (2010). Alpha-synuclein deficiency in the C57BL/6J<sup>OlaHsd</sup> strain does not modify disease progression in the ME7-model of prion disease. *Neuroscience* 165, 662–674.
- Boleij, H., Salomons, A.R., van Sprundel, M., Arndt, S.S., and Ohl, F. (2012). Not all mice are equal: welfare implications of behavioural habituation profiles in four C57BL/6J substrains. *PLoS One* 7, e42544. /6 substrains in mouse genetic studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1245, 31.
- Bryant, C.D. (2011). The blessings and curses of C57BL/6J mouse substrains. *PLoS One* 7, e42544. /6 substrains in mouse genetic studies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1245, 31.
- Bryant, C.D., Zhang, N.N., Sokoloff, G., Fanselow, M.S., Ennes, H.S., Palmer, A.A., and McRoberts, J.A. (2008). Behavioral differences among C57BL/6J substrains: implications for transgenic and knockout studies. *J. Neurogenet.* 22, 315–331.
- Cariappa A., Takematsu H., Liu H., Diaz S., Haider K., Boboila C., Kalloo G., Connole M., Shi H.N., Varki N., Varki A., Pillai S. (2008). B cell antigen receptor signal strength and peripheral B cell development are regulated by a 9-O-acetyl sialic acid esterase. *J Exp Med.* 2009 Jan 16;206(1):125-38.
- Chamary, J.-V., and Hurst, L.D. (2004). Similar Rates but Different Modes of Sequence Evolution in Introns and at Exonic Silent Sites in Rodents: Evidence for Selectively Driven Codon Usage. *Mol. Biol. Evol.* 21, 1014–1023.
- Chinwalla, A.T., Cook, L.L., Delehaunty, K.D., Fewell, G.A., Fulton, L.A., Fulton, R.S., Graves, T.A., Hillier, L.W., Mardis, E.R., McPherson, J.D., et al. (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 420, 520–562.
- Drake, J.W., Charlesworth, B., Charlesworth, D., and Crow, J.F. (1998). Rates of Spontaneous Mutation. *Genetics* 148, 1667–1686.
- Frazer, K.A., Eskin, E., Kang, H.M., Bogue, M.A., Hinds, D.A., Beilharz, E.J., Gupta, R.V., Montgomery, J., Morenzoni, M.M., Nilsen, G.B., et al. (2007). A sequence-based variation map of 8.27 million SNPs in inbred mouse strains. *Nature* 448, 1050–1053.
- Freeman, H.C., Hugill, A., Dear, N.T., Ashcroft, F.M., and Cox, R.D. (2006). Deletion of nicotinamide nucleotide transhydrogenase: a new quantitative trait locus accounting for glucose intolerance in C57BL/6J mice. *Diabetes* 55, 2153–2156.
- Hull, R.L., Willard, J.R., Struck, M.D., Barrow, B.M., Brar, G.S., Andrikopoulos, S., and Zraika, S. (2017). High fat feeding unmasks variable insulin responses in male C57BL/6 mouse substrains. *J. Endocrinol.* 233, 53–64.
- Lee Silver (1995). *Mouse Genetics: Concepts and Applications* (Oxford, New York: Oxford University Press)
- Liron, T., Raphael, B., Hiram-Bab, S., Bab, I.A., and Gabet, Y. (2017). Bone Loss in C57BL/6J-<sup>OlaHsd</sup> Mice, a Substrain of C57BL/6J Carrying Mutated Alpha-Synuclein and Multimerin-1 Genes. *J. Cell. Physiol.*
- Mahajan, V.S., Demissie, E., Mattoo, H., Viswanadham, V., Varki, A., Morris, R., and Pillai, S. (2016). Striking Immune Phenotypes in Gene-Targeted Mice Are Driven by a Copy-Number Variant Originating from a Commercially Available C57BL/6J Strain. *Cell Rep.* 15, 1901–1909.
- Mattapallil, M.J., Wawrousek, E.F., Chan, C.-C., Zhao, H., Roychoudhury, J., Ferguson, T.A., and Caspi, R.R. (2012). The Rd8 mutation of the *Crb1* gene is present in vendor lines of C57BL/6N mice and embryonic stem cells, and confounds ocular induced mutant phenotypes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53, 2921–2927.

- Mulligan, M.K., Ponomarev, I., Boehm, S.L., Owen, J.A., Levin, P.S., Berman, A.E., Blednov, Y.A., Crabbe, J.C., Williams, R.W., Miles, M.F., et al. (2008). Alcohol trait and transcriptional genomic analysis of C57BL/6 substrains. *Genes Brain Behav.* 7, 677–689.
- Nicholson, A., Reifsnnyder, P.C., Malcolm, R.D., Lucas, C.A., MacGregor, G.R., Zhang, W., and Leiter, E.H. (2010). Diet-induced obesity in two C57BL/6 substrains with intact or mutant nicotinamide nucleotide transhydrogenase (Nnt) gene. *Obes. Silver Spring Md* 18, 1902–1905.
- Pelkonen, A., and Yavich, L. (2011). Neuromuscular pathology in mice lacking alpha-synuclein. *Neurosci. Lett.* 487, 350–353.
- Peña-Oliver, Y., Buchman, V.L., Dalley, J.W., Robbins, T.W., Schumann, G., Ripley, T.L., King, S.L., and Stephens, D.N. (2012). Deletion of alpha-synuclein decreases impulsivity in mice. *Genes Brain Behav.* 11, 137–146.
- Petkov, P.M., Cassell, M.A., Sargent, E.E., Donnelly, C.J., Robinson, P., Crew, V., Asquith, S., Haar, R.V., and Wiles, M.V. (2004). Development of a SNP genotyping panel for genetic monitoring of the laboratory mouse. *Genomics* 83, 902–911.
- Poltorak, A., Smirnova, I., He, X., Liu, M.-Y., Van Huffel, C., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Du, X., Thompson, P., et al. (1998a). Genetic and Physical Mapping of the LpsLocus: Identification of the Toll-4 Receptor as a Candidate Gene in the Critical Region. *Blood Cells. Mol. Dis.* 24, 340–355.
- Poltorak, A., He, X., Smirnova, I., Liu, M.-Y., Huffel, C.V., Du, X., Birdwell, D., Alejos, E., Silva, M., Galanos, C., et al. (1998b). Defective LPS Signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr Mice: Mutations in Tlr4 Gene. *Science* 282, 2085–2088.
- Russell, L.B., and Russell, W.L. (1996). Spontaneous mutations recovered as mosaics in the mouse specific-locus test. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93, 13072–13077.
- Simon, M.M., Greenaway, S., White, J.K., Fuchs, H., Gailus-Durner, V., Wells, S., Sorg, T., Wong, K., Bedu, E., Cartwright, E.J., et al. (2013). A comparative phenotypic and genomic analysis of C57BL/6J and C57BL/6N mouse strains. *Genome Biol.* 14, R82.
- Specht, C.G., and Schoepfer, R. (2001). Deletion of the alpha-synuclein locus in a subpopulation of C57BL/6J inbred mice. *BMC Neurosci.* 2, 11.
- Specht, C.G., and Schoepfer, R. (2004). Deletion of multimerin-1 in alpha-synuclein-deficient mice. *Genomics* 83, 1176–1178.
- Watson, J., Kelly, K., Lergen, M., and Taylor, B.A. (1978). The Genetic Mapping of a Defective Lps Response Gene in C3H/HeJ Mice. *J. Immunol.* 120, 422–424.
- Wiles, M.V., Taft, R., and Eicher, E.M. (2009). Methods for maintaining genetic stability of inbred animal strains.
- Wiles, M.V., Taft, R., and Eicher, E.M. (2012). Methods for maintaining genetic stability of inbred animal strains.
- Wong, N., Blair, A.R., Morahan, G., and Andrikopoulos, S. (2010). The deletion variant of nicotinamide nucleotide transhydrogenase (Nnt) does not affect insulin secretion or glucose tolerance. *Endocrinology* 151, 96–102.





## 杰克森实验室 The Jackson Laboratory

上海市浦东新区金科路 2889 弄 3 号长泰广场 C 座 629 室

### 技术支持

电话: 400-001-2626  
邮件: micetech@jax.org.cn  
网站: www.jax.org/cn

### 询价下单:

电话: 400-693-5700  
邮件: orderquest@jax.org.cn  
网站: jax.ibiocart.com



扫码关注官方微信