



东方田鼠地方标准的编制以及相关研究进展

周智君, 苏志杰, 俞远京

(中南大学湘雅医学院实验动物学部)

【摘要】 洞庭湖栖居的东方田鼠是目前所知的唯一对日本血吸虫感染有特殊抗性的啮齿类哺乳动物, 受到了学者们重视并长期对它进行了实验动物化工作, 规范实验东方田鼠的生产和应用并制定东方田鼠地方质量和检测标准具有实际意义。本文对东方田鼠地方标准制定的必要性和意义、标准制定的原则和依据进行了阐述; 比较了其与现行法律、法规、标准的关系; 简介了标准编制的具体步骤; 说明了国际标准或国外先进标准的采标程度; 国内外同类标准水平的对比情况以及作为推荐性标准的建议及其理由等。

【关键词】 东方田鼠; 地方标准; 贯彻措施

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 06-0103-03

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.06.019

Formulation of local standard of *Microtus Fortis* as a laboratory animal: formulation and related research

ZHOU Zhi-jun, SU Zhi-jie, YU Yuan-jing

(Department of Laboratory Animals, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410078, China)

【Abstract】 The principle, basis, necessity and significance of formulating the local standard of *Microtus fortis* as a laboratory animal were described in this paper, and the standard was compared with the relationship between this standard of *Microtus fortis* as laboratory animal and the existing laws, regulations of other standards of laboratory animals. The specific procedures and the degree of adoption of domestic standards and advanced foreign standards were introduced. Furthermore, the proposal and the reasons of recommendatory standards were presented.

【Key words】 *Microtus fortis*; Standardization; Laboratory animal

编制标准的目的是为了固化成熟和有效的技术、知识、经验、工作等劳动成果, 为方便未来使用这些成果, 避免重复性的技术劳动和知识劳动。标准编制的工作方式主要是对技术、知识、经验等用文字进行总结, 当然有些情况还需要进行必要的验证或试验工作。

东方田鼠是我国潜在的实验动物资源并在本单位长期进行实验动物化研究和保种, 取得一系列的技术、知识、经验等, 编制东方田鼠的地方标准以及相关研究的目的在于整理、归纳、总结、提炼、提高、表达等这些技术、知识、经验等, 为推广和利用东方田鼠作为标准的实验动物创造条件。

1 东方田鼠地方标准制定的必要性和意义

日本血吸虫病是危害严重的人兽共患寄生虫病, 不同宿主对血吸虫感染的适宜性存在较大的差别。山羊、黄牛和小鼠等是其适宜宿主, 血吸虫的发育率可达50%~70%, 而在大鼠、水牛等非适宜宿主体内血吸虫的发育率仅为10%左右, 东方田鼠是至今发现的唯一一种感染血吸虫后不致病的哺乳动物, 血吸虫感染东方田鼠后, 虫体发育迟缓, 大部分虫体在感染后15d死亡, 不能发育成熟^[1]。说明宿主有着独特的机体内环境, 影响虫体在宿主体内

[基金项目] 湖南省科研条件创新专项(2013TT2004)。

[作者简介] 周智君(1971-), 女, 研究方向: 实验动物学。Email: zhouzhijun@csu.edu.cn

[通讯作者] 俞远京, 男, 研究员, 研究方向: 野生动物的实验动物化。Email: yjyhunan@163.com

的存活状态,这种抗感染性状能稳定地进行遗传^[2],研究这种性状具有重要意义。特别是在血吸虫基因组测序完成后,血吸虫基因组将有助于全面而系统地揭示日本血吸虫不同发育阶段和不同性别转录组学特征,为全面而系统地揭示日本血吸虫不同发育阶段和不同性别的蛋白质组学特征研究打下基础^[3],同时也有助于揭示宿主-血吸虫相互作用的分子基础,这为东方田鼠抗日本血吸虫感染机理研究提供了新线索,并对东方田鼠本身提出了更高的标准化要求,如培育清洁级东方田鼠,使其在实验中受到外来干扰更少。此外,东方田鼠具有大多数田鼠的一般特征,可以利用它作为新的实验动物资源在社会行为、糖尿病、肿瘤等动物模型方面进行应用,丰富生物医学研究的实验动物选择空间。

东方田鼠的深入研究,首先应对这种动物进行标准化,使在东方田鼠体内所开展的研究无论在时间还是空间都有可比性^[4],即使野生的东方田鼠成为实验用东方田鼠,目前国家尚没出台实验用东方田鼠的国家标准,各地方也没有实验用东方田鼠的地方标准。因此,研究建立实验用东方田鼠标准就显得尤为迫切。湖南省是东方田鼠的原产地,同时也是开展东方田鼠标准化研究较多的地区,实验用东方田鼠的用量较大,这就赋予了湖南省一项历史使命:建立实验用东方田鼠质量标准体系。

本标准体系建立的目的就是规范实验东方田鼠的生产和应用以及质量控制和检测方法。使培育的实验东方田鼠符合标准,为生命科学和医学研究提供一种新型的合格实验动物。标准的东方田鼠不仅可为医学和药学研究 and 开发提供标准化的实验材料,极大地促进医药的研发,而且对于整合我国潜在的实验动物资源,促进我国实验动物从资源优势转化为科研优势和商品优势,也有极大的影响。

2 标准制定的原则和依据,与现行法律、法规、标准的关系

本标准是参考国内外实验动物质量控制和文献资源后,对湖南省区域内现有的实验东方田鼠为材料进行质量控制研究基础上制定的。本标准是对实验动物系列国家标准在实验东方田鼠方面的延伸和检测方法的扩展。

3 标准编制的步骤

3.1 总结、整理、收集、分析国内外相关标准及相关资料数据

研究确定实验东方田鼠标准研究的指导思想和制定原则,研讨了课题启动方式,形成了标准编制方案,明确了数据补充实验的种类和方法,进一步开展实验研究。

3.2 专家进行意见征求

通过邀请小范围专家进行意见征求,继续补充数据,形成《实验东方田鼠饲养与质量控制技术规范》讨论稿 I。对部分存在争议的问题进行了深入的讨论,继续补充数据。通过召开本课题研讨会,对有关专家意见的采纳及处理情况进行了说明,经过修改后形成《实验东方田鼠饲养与质量控制技术规范》讨论稿 II。根据有关教授的意见,形成了《实验东方田鼠饲养与质量控制技术规范》审定稿。

3.3 召开标准审定会

以《实验东方田鼠饲养与质量控制技术规范》审定稿为蓝本,由湖南省质量监督局组织实验动物管理、实验动物饲养、动物实验、标准管理等专家对地方标准进行审定,并对审定意见做最后修改意见。

4 采用国际标准或国外先进标准情况以及与国内同类标准水平的对比

暂无东方田鼠相关国际标准。本项目在制定时,尽可能做到与国内外类似标准接轨,同时还考虑到我国实验东方田鼠现有水平和发展的需要,既不能盲目攀高,脱离我国及湖南地区现阶段的具体情况;也不能停滞保守,保护落后。根据国内外类似实验动物标准中的共性内容,列入实验东方田鼠的标准。

虽然制订的是湖南省地方标准,但是考虑到湖南在实验东方田鼠资源保存和生产供应的特殊性,在等级设定和各个等级检测项目设定方面,均从国内的整体水平进行考虑。在检测方法标准中所列出的检测方法是目前我国和国际上通常采用的检测方法。由于随着生物学技术的发展还会有新方法不断出现,建议将检测方法标准作为推荐性标准,从而有利于推动检测工作的开展、确保检测结果的准确性以及促进检测技术的全面发展。

5 主要内容以及作为推荐性标准的建议及其理由

本标准的制定旨在对湖南地区实验东方田鼠的标准化发展起到指导和引领作用,提出的内容主要涉及实验东方田鼠遗传、微生物与寄生虫、病理、配合饲料、饲养环境的要求和检测方法等内容,不直接

涉及保障人体健康、人身、财产安全等强制性标准领域,同时湖南地区实验东方田鼠标准化工作刚刚起步,新标准实施的过程也是在实施进程中积累经验、逐步累进的过程。因此,根据《中华人民共和国标准法》第七条的规定,建议将本标准作为推荐性标准发布实施。

6 小结及贯彻标准的措施建议

本标准在制定时,充分借鉴了国家系列标准如《GB 14923-2010 实验动物哺乳类实验动物的遗传质量控制》等,在此基础上,结合实验东方田鼠的繁殖和遗传特点,同时还考虑到我国目前实验东方田鼠现有水平和发展趋势,基本上代表了我国实验东方田鼠的质量控制要求和水平。但是,由于实验东方田鼠的质量标准是首次制定,因此,还需要经过实践的检验逐步完善。

建议实验动物管理部门在制定实验东方田鼠生产单位审批和检查相关文件时参考此标准;建议实验东方田鼠生产和使用单位在签订相关合同时,参

考本标准对实验东方田鼠的质量控制提出具体要求。

参 考 文 献

- [1] Li R, Wu GJ, Xiong DH, et al. A *Microtus fortis* protein, serum albumin, is a novel inhibitor to *Schistosoma japonicum* schistosomula [J]. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2013, 108 (7): 865-872.
- [2] Cheng G, Gong Q, Gai N, et al. Karyopherin alpha 2 (KPNA2) is associated with the natural resistance to *Schistosoma japonicum* infection in *Microtus fortis* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(3): 230-237.
- [3] The *Schistosoma japonicum* Genome Sequencing and Functional Analysis Consortium. The *Schistosoma japonicum* genome reveals features of host-parasite interplay nature [J]. *Nature*. 2009, 460 (7253): 345-351.
- [4] 俞远京. 野生动物资源的实验动物化策略. 中国科学技术协会 中国实验动物学会《2008-2009 实验动物学学科发展报告》[M]. 中国科学技术出版社, 北京, 2009.
- [收稿日期] 2014-10-31
-
- (上接第 98 页)
- [44] Cong L, Ran FA, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems [J]. *Science*, 2013, 339: 819-823.
- [45] Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF, 3rd. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering [J]. *Trends Biotechnol*, 2013, 31: 397-405.
- [46] Hwang WY, Fu Y, Reyon D, et al. Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 227-229.
- [47] Wiedenheft B, Sternberg SH, Doudna JA. RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea [J]. *Nature*, 2012, 482: 331-338.
- [48] Chang N, Sun C, Gao L, et al. Genome editing with RNA-guided Cas9 nuclease in zebrafish embryos [J]. *Cell Res*, 2013, 23: 465-472.
- [49] Scheer N, Campos-Ortega JA. Use of the Gal4-UAS technique for targeted gene expression in the zebrafish [J]. *Mech Dev*, 1999, 80: 153-158.
- [50] Gu H, Marth JD, Orban PC, et al. Deletion of a DNA polymerase beta gene segment in T cells using cell type-specific gene targeting [J]. *Science*, 1994, 265: 103-106.
- [51] Le X, Langenau DM, Keefe MD, et al. Heat shock-inducible Cre/Lox approaches to induce diverse types of tumors and hyperplasia in transgenic zebrafish [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104: 9410-9415.
- [52] Xiong F, Wei ZQ, Zhu ZY, et al. Targeted expression in zebrafish primordial germ cells by Cre/loxP and Gal4/UAS systems [J]. *Mar Biotechnol (NY)* 2013, 15: 526-539.
- [53] 肖安, 雨田, 张博. 斑马鱼研究计划与相关资源简介 [J]. *遗传* 2013, 35: 547-548.
- [54] Kettleborough RN, Busch-Nentwich EM, Harvey SA, et al. A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function [J]. *Nature*, 2013, 496: 494-497.
- [55] Amsterdam A, Nissen RM, Sun Z, et al. Identification of 315 genes essential for early zebrafish development [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 12792-12797.
- [56] Clark KJ, Balciunas D, Pogoda HM, et al. In vivo protein trapping produces a functional expression codex of the vertebrate proteome [J]. *Nat Methods*, 2011, 8: 506-5015.
- [57] Harvey B, Kelley RN, Ashwood-Smith MJ. Cryopreservation of zebra fish spermatozoa using methanol [J]. *Canad J Zool*, 1982, 60(8): 1867-1870.
- [58] Draper BW, Moens CB. A high-throughput method for zebrafish sperm cryopreservation and in vitro fertilization [J]. *J Vis Exp*, 2009, (29), e1395, doi:10.3791/1395.
- [59] Moens CB, Donn TM, Wolf-Saxon ER, et al. Reverse genetics in zebrafish by TILLING [J]. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2008, 7(6): 454-459.
- [收稿日期] 2014-10-24