



赵莹, 硕士, 副研究员。上海实验动物研究中心应用技术部副部长, 承担上海市实验动物资源共享服务平台管理工作, 同时担任《实验动物与比较医学》青年编委。主要从事实验动物(大鼠、小鼠、小型猪)种质资源保存、种群群体遗传质控研究、出生缺陷等动物模型研发及机制研究; 多年从事动物实验设施管理、实验动物福利伦理等工作, 熟悉 GLP 及 AAALAC 管理体系。主持完成“利用 PCR-LDR 基因分型技术构建小鼠特异染色体替换系群”“大鼠骨痛模型筛选评价及中药干预作用”“野生来源 1 号染色体同源导入近交系 C57BL6/J 的研究与应用”“常用近交系及染色体替换小鼠遗传鉴定方案构建的研究”“1 号染色体替换系小鼠高脂模型的建立与研究”等多项省部级科研项目, 参与省部级科研项目、地方科研项目和推荐性国家标准计划各 1 项。发表论文 25 篇, 其中近 3 年以第一或共一作者身份在 *Cell Discovery*、*EMBO Molecular Medicine* 等期刊发表 SCI 论文 2 篇, 累计影响因子达 46; 获得专利 2 项。

基于多重 PCR-LDR 技术建立近交系大鼠单核苷酸多态性遗传检测方案

赵丽亚^{1,2}, 倪丽菊¹, 张彩勤³, 汤建平^{1,2}, 姚养正⁴, 聂艳艳¹, 顾晓雪², 赵莹¹

(1. 上海实验动物研究中心, 上海 201203; 2. 上海必凯科翼生物科技有限公司, 上海 201203; 3. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710038; 4. 陕西省中医药研究院, 西安 710003)

[摘要] 目的 建立一套基于多重 PCR-连接酶检测反应 (ligase detection reaction, LDR) 技术的近交系大鼠单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 检测方案。方法 在 5 个品系的 SPF 级近交系大鼠 1~20 号常染色体和 X 染色体上共选取 40 个大鼠 SNP 位点, 将 SNP 位点随机分为 4 组, 构建基于多重 PCR-LDR 技术的近交系大鼠 4 组 SNP 位点基因检测方案。采用本方案检测国内另两家大鼠供应商的 9 个常用大鼠品系。最后, 通过第三方实验室对不同 DNA 聚合酶的扩增效果进行比对, 验证本方案的可行性。结果 用所构建的近交系大鼠 SNP 遗传检测方案测试 5 个大鼠品系时, 各样本的所有位点均得到了良好的扩增结果。采用本方案检测国内另两家大鼠供应商的 9 个常用大鼠品系时也得到了良好的扩增结果, 40 个 SNP 位点在每个近交系大鼠中均为纯合。用 3 种来源不同的 DNA 聚合酶同时检测相同大鼠 DNA 样本的结果显示, Multiplex PCR Kit、AmpliTaq Gold™ 360 DNA 聚合酶、Platinum II Taq 热启动 DNA 聚合酶在第 1~3 组 SNP 位点均有扩增产物的电泳峰, 其中 Platinum II Taq 热启动 DNA 聚合酶在第 4 组 SNP 位点中少了一个扩增产物的电泳峰。另外, 不同实验室间的比对结果显示, 相同扩增体系的检测结果一致。结论 基于多重 PCR-LDR 技术成功建立了一套覆盖所有常染色体与 X 染色体的大鼠 SNP 检测方案, 该方法的稳定性和重复性俱佳。

[关键词] 近交系大鼠; 单核苷酸多态性; 多重 PCR-LDR; 遗传检测; 验证

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)05-0548-11



Establishing a Genetic Detection Protocol of Single Nucleotide Polymorphisms Panels in Inbred Rats Based on Multiplex PCR-LDR

ZHAO Liya^{1,2}, NI Liju¹, ZHANG Caiqin³, TANG Jianping^{1,2}, YAO Yangzheng⁴, NIE Yanyan¹, GU Xiaoxue², ZHAO Ying¹

(1. Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China; 2. Shanghai BK/KY Biotechnology Co., Ltd., Shanghai 201203, China; 3. Laboratory Animal Center of Air Force Medical University, Xi'an 710038, China; 4. Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China)

Correspondence to: ZHAO Ying (ORCID: 0000-0002-0551-0566), E-mail: zhaoying@slarc.org.cn

[第一作者] 赵丽亚(1981—), 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 分子遗传学。E-mail: Zhaoliya3002@163.com;

倪丽菊(1979—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 实验动物遗传。E-mail: niliju@163.com

[通信作者] 赵莹(1982—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 实验动物遗传。E-mail: zhaoying@slarc.org.cn。ORCID: 0000-0002-0551-0566

[ABSTRACT] Objective To establish a set of single nucleotide polymorphisms (SNP) detection protocol for inbred rats based on multiplex PCR-ligase detection reaction (LDR). **Methods** A total of 40 rats SNP sites were selected on chromosomes 1-20 and X of rats among 5 inbred strains of rats, and the 40 SNP sites were randomly divided into four groups. A genetic detection protocol for 4 groups of SNP in inbred rats based on multiplex PCR-LDR technology was constructed. 9 commonly used rat strains from two other domestic rat suppliers were detected by this protocol. Finally, the feasibility of this protocol was verified by comparing the amplification effects of different DNA polymerases by a third-party laboratory. **Results** When using the constructed SNP detection protocol for inbred rats to test 5 rat strains, all sites in each sample obtained good amplification results. The 9 commonly used rat strains from two other rat suppliers in china were also well amplified by this SNP detection protocol, and 40 SNPs were homozygous in each Inbred strain. The results of detection of the same rat DNA samples with three different DNA polymerases showed that the Multiplex PCR Kit, AmpliTaq Gold 360 DNA polymerase and Platinum II Taq hot start DNA polymerase had electrophoretic peaks of amplification products at all SNP sites in groups 1 to 3, and Platinum II Taq hot start DNA polymerase had one less electrophoretic peak of the amplification products at the SNP sites in group 4. In addition, inter-laboratory comparisons showed consistent results for the same amplification system. **Conclusion** Based on multiplex PCR-LDR technology, this study successfully established a SNP detection protocol for rats covering all autosomes and X chromosomes with the excellent stability and repeatability.

[Key words] Inbred rats; Single Nucleotide Polymorphisms; Multiplex PCR-LDR; Genetic detection; Verification

生物医药研究离不开遗传质量稳定的实验动物。在构建动物模型、探索疾病发生机制、寻找药物靶点时, 研究人员一般倾向于选择遗传背景一致的动物, 以减少个体差异对实验结果的干扰, 提高实验的重复性和精确性。但动物在传代过程中可能会由于引种不当、基因漂变、保种/繁殖等原因, 导致遗传质量下降^[1]。欧美等生物医药发达国家早已将遗传质控列为实验动物资源保存的重要工作之一, 投入大量经费开展遗传检测及种群质量控制研究, 并由此支撑生命科学和生物医药产业的创新研究和发展^[2]。近年来, 我国的实验动物遗传质控工作也越来越受到国家重视, 2023年7月1日开始实施的新国家标准 GB 14923—2022《实验动物 遗传质量控制》^[3]在近交系大鼠、小鼠遗传检测方法中, 提供了近交系大鼠、小鼠可用短串联重复序列 (short tandem repeats, STR) 和单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 进行遗传检测的指导原则, 但并无近交系大鼠的 SNP 位点信息及具体检测方法。

在众多的 DNA 分子标记中, SNP 标记由于具备共显性、标记丰富和良好的遗传稳定性而逐渐成为国内、国际通行的遗传检测方法^[4-7]。本研究拟通过多重 PCR-连接酶检测反应 (ligase detective reaction, LDR)

技术^[8]建立一套覆盖所有常染色体与 X 染色体的大鼠 SNP 检测方案, 并经过不同品牌 DNA 聚合酶、不同实验室的验证, 确定一种兼具准确性、应用性与经济性的方案, 以便推广应用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

Multiplex PCR Kit (PM101-02, 酶 1) 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司, AmpliTaq Gold™ 360 DNA 聚合酶 (4398896, 酶 2)、POP7 胶 (4363929)、3730 Buffer (10×) (4335613) 和 Hi-Di™ Formamide (4311320) 均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司, Platinum II Taq 热启动 DNA 聚合酶 (14966001, 酶 3) 购自美国 Invitrogen 公司, Taq DNA 连接酶 (M0208L) 购自美国 NEB 公司, 基因组 DNA 提取试剂盒 (DP304) 购自天根生物科技 (北京) 有限公司。

PCR 仪 (Veriti™)、3730 DNA 分析仪 (Applied Biosystems™)、超微量分光光度计 (NanoDrop 1000) 和台式高速冷冻大容量离心机 (Legend RT) 均购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

1.2 实验动物

近交系大鼠 BN/BK1、F344/BK1、DA/BK1、PVG/

BK1、Lewis/BK1 来自 A 单位，WKY/Slac、SHR/Slac、F344/JclSlac、GK/Slac、Wistar/Slac 来自 B 单位，CHN1、CHN2、CHN5、CXB 来自 C 单位，均为 SPF 级。

从每个品系的核心群随机抽取 6 只大鼠，6~8 周龄，雌雄各半。动物实验经上海实验动物研究中心实验动物管理和伦理委员会审查批准（批号：202201202）。

1.3 位点选择

在全基因组范围内，从 Ensembl 数据库（<https://asia.ensembl.org/index.html>）中查询 1~20 号常染色体

和 X 染色体上的 SNP 位标，共选取 40 个大鼠 SNP 位点^[9-10]。每条染色体上选取 1~2 个 SNP 位点，且不同位点距离 15 Mb 以上^[11]。通过 Primer3Web 在线引物设计系统（Version 4.1.0）设计引物和探针（3'端为 FAM 标记），然后由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。

将 40 个 SNP 位点分为 4 组，构建 4 组多重 PCR 扩增体系，每组位点信息及引物序列见表 1，第 1 组位点对应序号为 a1~a10，第 2 组位点对应序号为 b1~b9，第 3 组位点对应序号为 c1~c11，第 4 组位点对应序号为 d1~d10。

表 1 40 个 SNP 位点及引物序列
Table 1 40 SNP loci and primer sequences

序号 No.	SNP 位点 Reference SNP ID	染色体 Chromosome	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequences
a1	rs65970293	chr1	rs65970293-up rs65970293-low	TGCACATTGGGACTGCTTTA ATCTGGCATGGACAGAGCTT
a2	rs106996961	chr2	rs106996961-up rs106996961-low	ATAGGGCCAAGGTCCCATTTC GAAAAGAACGCTAATCACAGGACA
a3	rs63860341	chr3	rs63860341-up rs63860341-low	CAATGAATCAAAGGCAACCA CCACGGTCCCTATGTGAACT
a4	rs64750237	chr4	rs64750237-up rs64750237-low	CAGGTATGGCTTTGGAGGAA GTTTTCAGCTGGAGCTGTCC
a5	rs107261116	chr5	rs107261116-up rs107261116-low	CAGCATTGGCAAGTCTTCTCT TGATAAAAGGAGCAGCAGCA
a6	rs64102787	chr6	rs64102787-up rs64102787-low	CGGGGATCAAAGAGACAAAA ATAGTGCCAAAGCCCAACAC
a7	rs105187832	chr7	rs105187832-up rs105187832-low	AGACTACTGGGCTGCTCACC CATGGCACACCTTTCTTTCA
a8	rs64682441	chr9	rs64682441-up rs64682441-low	GCTGGAAGTCTCTGGAGTGG ACAAGTGGACTGGCTCAGGT
a9	rs65067166	chr10	rs65067166-up rs65067166-low	ATCCCTCTCTTGCCAGGAT GTAGGGTGAGGCTGCTTCTG
a10	rs8167985	chr11	rs8167985-up rs8167985-low	ACCCCTCTTGCTTTCTGTT CTGCTCTTGATGAAACCA
b1	rs106672258	chr12	rs106672258-up rs106672258-low	GCCCTTCCAAGGTCATACT AAAGCACAAAAATGCCATCC
b2	rs65921305	chr13	rs65921305-up rs65921305-low	AACCTGGTGATTGTGAGAGC GGCAGACTCCAGGAAGATTG
b3	rs106458396	chr15	rs106458396-up rs106458396-low	AGAGCAGCTGCCAAAATAGC AAACCTGGCTTTAGCAAGCA
b4	rs106888236	chr16	rs106888236-up rs106888236-low	TGTGAAGAACACAGGCTCTCC TGCCAAACACCATGTAATGAA
b5	rs63814610	chr17	rs63814610-up rs63814610-low	TAGGACAGGGGGAACAACCTG CCCAAGCATCCTTGACTGTT
b6	rs8152541	chr18	rs8152541-up rs8152541-low	CGTGTCATTCTGACTGTGG ACAGGAGCTGGCACTGAATC
b7	rs105824121	chr19	rs105824121-up rs105824121-low	TTCTGCAATCAAGGGTGGAT GGCCACCAAGATACACAGG
b8	rs13453252	chr20	rs13453252-up	TACGCCATTTGCGACATTA

(续表)

序号 No.	SNP 位点 Reference SNP ID	染色体 Chromosome	引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequences
b9	rs65108991	chrX	rs13453252-low	GGTTCCTACGAGGAACGAC
			rs65108991-up	CATCCCAGAAGCCCTGTTTA
			rs65108991-low	GAAGTCAGTGCTGTGCCTCA
c1	rs106891788	chr1	rs106891788-up	TCCATCTGCTTGGCCCTAAT
			rs106891788-low	GTTGCAACCCACAGGTTGAG
c2	rs107493604	chr2	rs107493604-up	TCCTCCTGGAAGACAGCAAC
			rs107493604-low	GTTCTGTGAGAAGGGGCTCTC
c3	rs65632519	chr3	rs65632519-up	CCCTGTTTCAGCCTTTTGTG
			rs65632519-low	GAGGAAGAGGGAAGGGAGAA
c4	rs107163178	chr4	rs107163178-up	TTCTCCACCGGAGACTTAG
			rs107163178-low	GAGAGGGCATATGTGGGATG
c5	rs105170847	chr5	rs105170847-up	TGGTTGGATGAATGGAGACA
			rs105170847-low	CCTCAGGAGACCAACATTT
c6	rs106547562	chr6	rs106547562-up	GGTTTTGCTCAGCAGGTT
			rs106547562-low	CTCTTAGGCATCTGGGGAAA
c7	rs65502317	chr7	rs65502317-up	TGTGCATGCTTACAGTGGCTA
			rs65502317-low	AGCCAACTGGAGCCACATAG
c8	rs105694545	chr8	rs105694545-up	TCAGCAGTGCTCAGCAGTTT
			rs105694545-low	CGTAACATCATTTGGCATCG
c9	rs65801920	chr9	rs65801920-up	TGGCTCTTGGTCATCATCTG
			rs65801920-low	TTTTGCAGCCTGTGTGTAGC
c10	rs105168947	chr10	rs105168947-up	GGCGGACAGAACATAGGTGT
			rs105168947-low	CAGCCAACTCCCAGATCAT
c11	rs106880606	chr11	rs106880606-up	AGTGGGTTTAGCAAGCAGGA
			rs106880606-low	GTCGTCGAAATGCAGGAGAT
d1	rs8158863	chr12	rs8158863-up	GGTCACAGCCATTCTGGATT
			rs8158863-low	GCCCTGAATGCAGGTGTAGT
d2	rs105965886	chr13	rs105965886-up	CACCAGCAAAAGGGAAAAAG
			rs105965886-low	CAGAACACAGCCTCAGTTGG
d3	rs63919332	chr14	rs63919332-up	GTCCTGTCGCCCCAATATCAC
			rs63919332-low	ACAACAATGGCAGTGGTCAA
d4	rs65809306	chr15	rs65809306-up	AGCACTTGTGTGGGAAGCTC
			rs65809306-low	CCTGACAAAACCACATGCAG
d5	rs65087257	chr16	rs65087257-up	CCTTCCTTTTCCACTGTCCA
			rs65087257-low	CTTAGGGCCTAGGGGCTTTA
d6	rs106021355	chr17	rs106021355-up	GGTGGTTTATGGCCAGGATA
			rs106021355-low	AACTGGAGAGGAAAAGGGACA
d7	rs106171441	chr18	rs106171441-up	TCAATTCTTGGCAGCATCAG
			rs106171441-low	CTGGCCACTTCTCTGAGTCC
d8	rs106777713	chr19	rs106777713-up	GTGAAGCGACATCGTCAAGA
			rs106777713-low	CTTGGCTGTGAGATCGAGGT
d9	rs104937988	chr20	rs104937988-up	GCTGCACAGAACTGATTCCA
			rs104937988-low	TGCAAGAATTAATAAAATCCAAA
d10	rs105294203	chrX	rs105294203-up	ACTCCCCAGAGGATTGTCTG
			rs105294203-low	ATGTTCAGTGCAACGATGG

1.4 基因组DNA抽提

取大鼠新鲜鼠尾组织 0.5 cm，在加有蛋白酶 K 的抽提缓冲液中消化 4 h。使用基因组 DNA 抽提试剂盒提取 DNA，产物经 ND-1000 分光光度计检测，吸光度 A_{260}/A_{280} 均在 1.8 ~ 2.0，基因组 DNA 质量浓度都大于

30 ng/ μ L，-20 °C 保存备用。

1.5 多重 PCR-LDR 技术

1.5.1 多重 PCR 扩增

多重 PCR 扩增体系：10×PCR Buffer（不含 Mg^{2+} ）1 μ L， Mg^{2+} （15 mmol/L）2 μ L，各位点上下游混合引

物（每条引物各 0.2 $\mu\text{mol/L}$ ）1 μL ，dNTP（2.5 mmol/L）1 μL ，GC 增强剂 1 μL ，多重 PCR DNA 聚合酶 0.1 μL ，基因组 DNA 1 μL ，加水补足 10 μL 。扩增程序：95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 15 min；94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s，50 $^{\circ}\text{C}$ ~ 65 $^{\circ}\text{C}$ 退火 90 s，72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min，共 35 个循环；72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min；14 $^{\circ}\text{C}$ 保持。

1.5.2 LDR 反应体系及程序

LDR 反应体系：10 $\times$ Buffer 1 μL ，各位点混合探针（每条探针各 0.5 $\mu\text{mol/L}$ ）各 1 μL ，模板（PCR 产物）4 μL ，Taq DNA 连接酶（40 U/ μL ）0.1 μL ，加水补足 10 μL 。反应程序：95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min；94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s，50 $^{\circ}\text{C}$ 变性 2 min，共 30 个循环；14 $^{\circ}\text{C}$ 保持。

1.5.3 多重 PCR-LDR 产物检测

产物变性：反应总体积为 10 μL ，LDR 产物 1 μL ，去离子甲酰胺 8 μL ，内参 ROX 1 μL 。变性程序：95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min，迅速放在冰水浴中。5 min 后，将变性后的产物放入 3730 DNA 分析仪中进行电泳分析，获得毛细管电泳峰图后，使用仪器配套的分型软件对其进行分析，得到检测个体的 SNP 位点碱基信息。

1.6 大鼠 SNP 多重 PCR-LDR 检测方案构建

选用 A 单位的近交系大鼠 BN/BK1、F344/BK1、DA/BK1、PVG/BK1、Lewis/BK1，每个品系 6 只，雌雄各半。选用的多重 PCR DNA 聚合酶为酶 2。多重 PCR 反应体系和程序按照酶 2 的说明书进行操作。

在构建多重 PCR 方案筛选退火温度时，采用温度梯度找到最佳退火温度，最终确定第 1 组退火温度为 59 $^{\circ}\text{C}$ ，第 2 组退火温度为 61 $^{\circ}\text{C}$ ，第 3 组退火温度为 61 $^{\circ}\text{C}$ ，第 4 组退火温度为 57 $^{\circ}\text{C}$ 。各引物之间浓度比例相同。

1.7 一代测序验证本方案

选用 BN/BK1 和 Lewis/BK1 大鼠，每个品系各 1 个样本，雄性。采用 PCR 方法，分别对 2 个品系的 40 个 SNP 位点进行扩增。PCR 产物通过测序，验证是否与该品系在同一 SNP 位点的基因型对应。

1.8 不同品牌多重 DNA 聚合酶间的比对

选用 BN/BK1、Lewis/BK1、CXB 大鼠，每个品系各 2 个样本，雌雄各 1 个。为检验所构建的多重 PCR-LDR 方案是否适用于多品牌多重 PCR DNA 聚合酶，选择市面上常用的多重 PCR DNA 聚合酶——酶 1、酶 2 和酶 3 来测试多重 PCR 体系。多重 PCR 反应体系和程序按照各酶的说明书运行。

1.9 不同实验室间的比对

选用 BN/BK1、Lewis/BK1、CXB 大鼠，每个品系各

2 个样本，雌雄各 1 个。为验证所构建的多重 PCR-LDR 方案的重复性，本研究邀请第三方检测实验室（空军军医大学实验动物中心）对本方案进行测试，所用 DNA 聚合酶为酶 2。

1.10 大鼠 SNP 多重 PCR-LDR 检测方案的应用

选用 B 单位的近交系大鼠 WKY/Slac、SHR/Slac、F344/JclSlac、GK/Slac、Wistar/Slac 以及来自 C 单位的近交系大鼠 CHN1、CHN2、CHN5、CXB，每个品系 6 只，雌雄各半。将构建的多重 PCR-LDR 检测方案应用于从国内另外两家近交系大鼠供应商（即单位 B 和 C）中获得的样本，以了解国内常用近交系大鼠的遗传背景信息，所用多重 DNA 聚合酶为酶 2 的多重 PCR 扩增体系。

2 结果

2.1 大鼠 SNP 多重 PCR-LDR 检测方案构建

采用多重 PCR-LDR 技术方案对 5 个品系大鼠进行检测，结果显示均得到了良好扩增。图 1 为 Lewis/BK1 大鼠各 SNP 位点的电泳结果峰图，可见每个 SNP 位点均为单峰，即为纯合子。

用该方案分析了 A 单位的 5 个品系 30 只近交系大鼠，结果发现各品系之间存在着数量不等的差异 SNP 位点，分析结果见表 2。其中差异位点最多的是 BN/BK1 和 PVG/BK1 品系，有 22 个 SNP 位点基因型不同；差异位点最少的是 DA/BK1 和 Lewis/BK1 品系，有 13 个位点存在差异。

2.2 一代测序验证结果

采用多重 PCR-LDR 技术方案测得的 5 个品系 30 只近交系大鼠的基因型结果见表 3。进一步用近交系大鼠 BN/BK1 和 Lewis/BK1 的各 SNP 位点测序结果与表 3 中本方案测出的结果进行比较，发现用不同检测方法得到的结果完全相同。

2.3 不同品牌多重 PCR DNA 聚合酶的测试结果

分别用酶 1、酶 2、酶 3 共 3 种酶检测同一品系大鼠 DNA 样本的 4 组 SNP 位点，发现用每种酶所检测的 BN/BK1、Lewis/BK1、CXB 这 3 个大鼠品系的结果完全相同。为更加清晰地了解每种酶的检测结果，以 BN/BK1 大鼠为例，结果见图 2，显示酶 1、酶 2、酶 3 在第 1 至第 3 组的 SNP 位点中均有扩增产物的电泳峰，酶 3 在第 4 组 SNP 位点中少了一个位点扩增产物的电泳峰。

2.4 实验室间的比对结果

用构建的多重 PCR-LDR 方案，请第三方检测实验

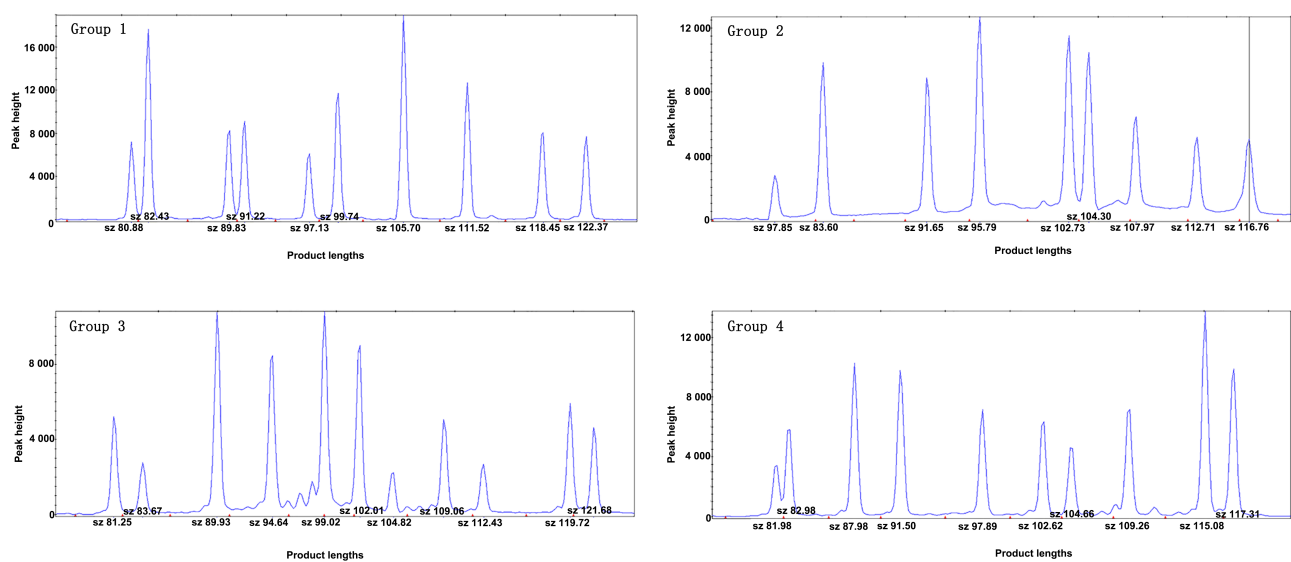


图1 SNP检测方案构建结果(以 Lewis/BK1 大鼠 DNA 为模板,采用 40 个 SNP 位点进行检测的毛细管电泳峰图)

Figure 1 Results of SNP detection protocol (capillary electrophoresis maps of 40 SNP sites for detection , using the DNA of Lewis/BK1 rats as template)

表2 单位 A 的 5 个大鼠品系间碱基有差异的 SNP 位点编号及数量

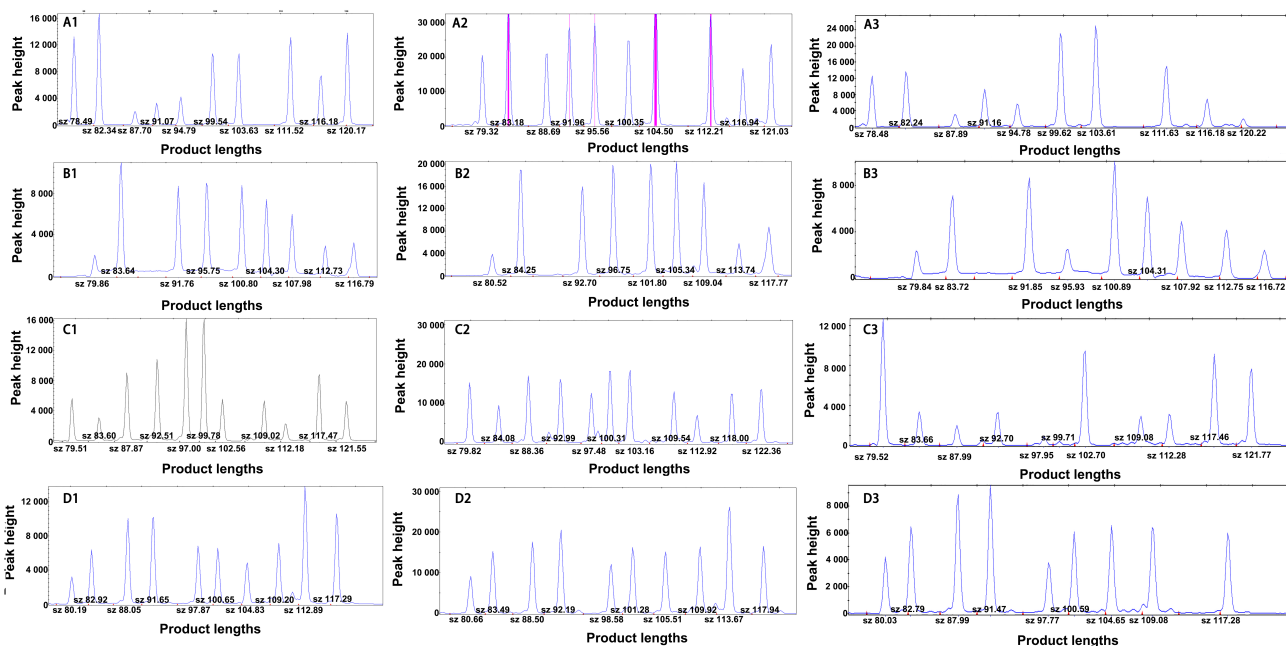
Table 2 The number and quantity of the SNP loci with different bases among five rat strains from Lab A

大鼠品系 Rat strains	碱基有差异的 SNP 位点编号(右上三角)及数量(左下三角) Differences in SNP loci (right-upper triangle) and numbers (left-lower triangle)				
	F344/BK1	BN/BK1	DA/BK1	PVG/BK1	Lewis/BK1
F344/BK1	-	a1/a2/a3/a4/a5/a9/a10/b2/b5/b7/c2/c3/c6/c8/c10/c11/d2/d6/d7/d8/d9	a1/a2/a4/a7/a9/b4/b8/c1/c2/c3/c6/c9/c11/d2/d7/d8/d10	a4/b1/b3/b4/b5/b6/b7/c1/c6/c8/c9/d1/d2	a2/a4/a7/b2/b7/c1/c2/c4/c5/c7/c8/c11/d1/d2/d7/d8
BN/BK1	21	-	a3/a5/a7/a10/b2/b4/b5/b7/b8/c1/c8/c9/c10/d6/d9/d10	a1/a2/a3/a5/a9/a10/b1/b2/b3/b4/b6/c1/c2/c3/c9/c10/c11/d1/d6/d7/d8/d9	a1/a3/a5/a7/a9/a10/b5/c1/c3/c4/c5/c6/c7/c10/d1/d6/d9
DA/BK1	17	16	-	a1/a2/a7/a9/b1/b3/b5/b6/b7/b8/c2/c3/c8/c11/d1/d7/d8/d10	a1/a9/b2/b4/b7/b8/c3/c4/c5/c6/c7/c8/c9/d1/d10
PVG/BK1	13	22	18	-	a2/a7/b1/b2/b3/b4/b5/b6/c2/c4/c5/c6/c7/c9/c11/d7/d8
Lewis/BK1	16	17	15	17	-

室进行了比对试验,除了操作人、仪器不同以外,其余条件均相同。结果显示,第三方检测实验室所检测3个大鼠品系 BN/BK1、Lewis/BK1、CXB 大鼠的结果与本课题组的检测结果(即表3中结果)完全相同。图3为 CXB 大鼠 DNA 样本在不同实验室的检测结果峰图。由此可见,本研究构建的多重 PCR-LDR 检测方案有很好的重复性。

2.5 大鼠 SNP 多重 PCR-LDR 检测方案的应用结果

用所构建的多重 PCR-LDR 检测方案分析了国内 B、C 两家供应商的 9 个常用大鼠近交系品系,发现所检动物品系在 40 个 SNP 位点上均为纯合状态,同品系同单位动物的 SNP 位点检测结果均相同。但其中不同供应商的 F344 大鼠在 2 个 SNP 位点上存在结果差异,



注: A1~A3为用酶1、酶2、酶3检测的第1组SNP位点结果; B1~B3为酶1、酶2、酶3检测的第2组SNP位点结果; C1~C3为酶1、酶2、酶3检测的第3组SNP位点结果; D1~D3为酶1、酶2、酶3检测的第4组SNP位点结果。

Note: A1-A3, Results of the first group of SNP loci detected using enzyme 1, enzyme 2, and enzyme 3, respectively; B1-B3, Results of the second group of SNP loci detected for enzyme 1, enzyme 2, and enzyme 3; C1-C3, Results of the third group of SNP loci detected by enzyme 1, enzyme 2, and enzyme 3; D1-D3, Results of the fourth group of SNP loci detected for enzyme 1, enzyme 2, and enzyme 3.

图2 大鼠SNP多重PCR-LDR检测方案中3种DNA聚合酶的应用结果(以BN/BKI大鼠为例)

Figure 2 Application results of three DNA polymerases in the multiple PCR-LDR detection scheme of rat SNP (using BN/BKI rats as an example)

一个是16号染色体的rs65087257位点, 另一个是19号染色体的rs106777713位点。具体检测结果见表3。

3 讨论

大鼠、小鼠在生物医药研究中占据极为重要的地位。Jackson实验室、Charles River公司等欧美大型实验动物资源保存机构早在20世纪末, 就已陆续建立了一系列常用实验动物SNP遗传检测方案, 形成了较为完善的种群评价方法^[12]。不同机构之间检测近交系大鼠的方法有差异。例如, 美国Taconic公司采用96个SNP位点, Harlan公司采用48个SNP位点检测近交系大鼠。而Charles River公司采用32个SNP位点对近交系大鼠进行遗传污染鉴定。FELASA工作组则建议大鼠、小鼠遗传稳定方案中使用40个SNP^[1]。

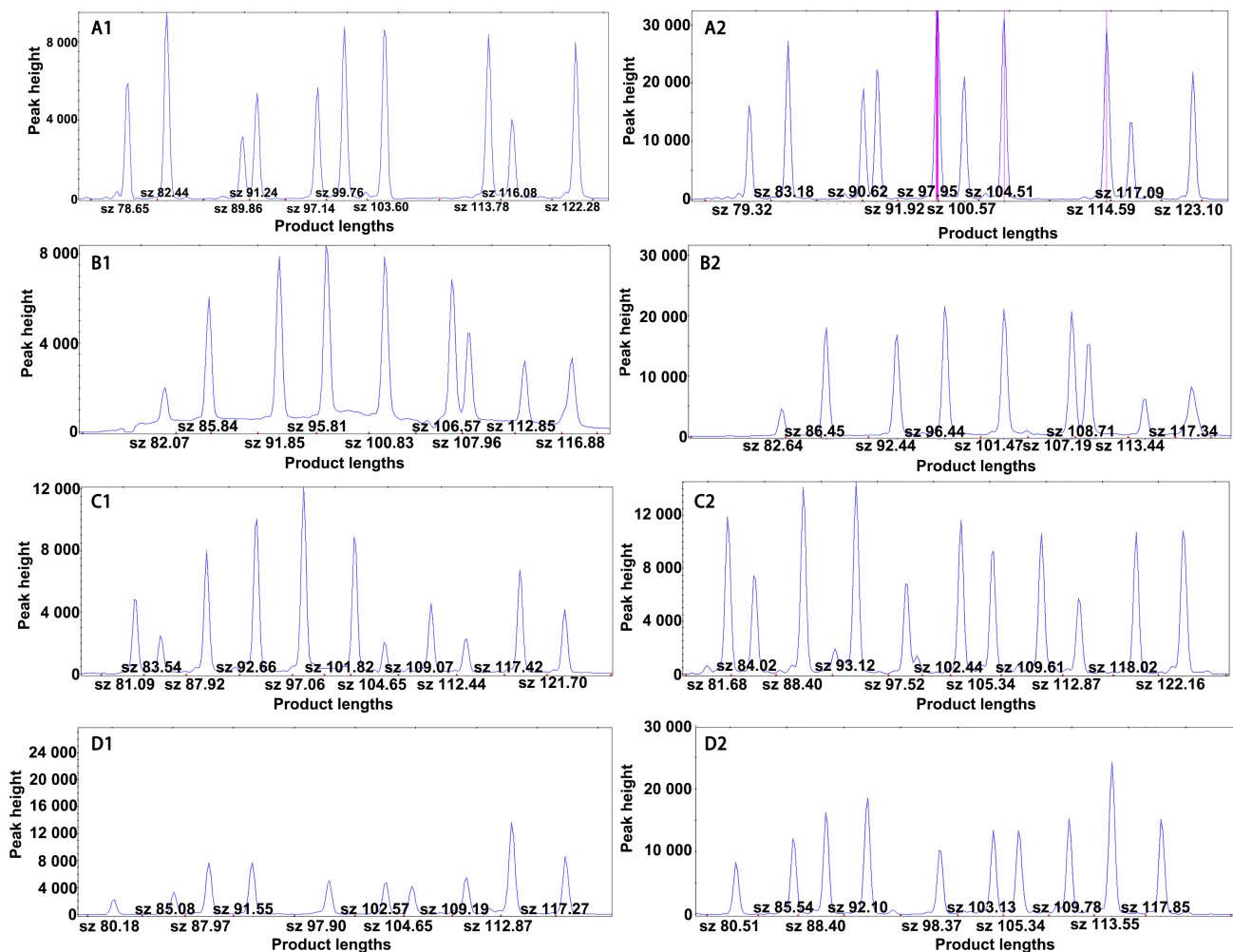
3.1 SNP位点组合可行

本研究根据FELASA工作组建议选择了40个SNP位点^[1], 同时覆盖了1~20号常染色体和X性染色体, 形成了我们特有的SNP遗传检测组合, 以此设计多重PCR-LDR体系。本研究开发的SNP检测方法基本做到

了一个PCR反应可以同时检测9~11个SNP位点, 大幅缩短了检测时间。用构建的多重PCR-LDR方案检测本机构5个近交系大鼠(每个品系各3雌3雄), 结果显示, 两两近交系之间, 在40个SNP中有差异的SNP位点数在13~22个, 可见所选SNP对这5个近交系大鼠有较好的区分度。Petkov等^[11]在2004年提到, 在95%置信区间内, 平均26.3个SNP中有5个差异SNP; 而在99%置信区间内, 平均43.5个SNP中有5个差异SNP。本研究检测发现, 平均40个SNP位点有17.2个差异SNP。本研究中的SNP差异数高于Petkov等^[11]文章中的理论差异数, 说明筛选的40个SNP在两两品系间具有多态性, 提示本方案可用于区分常用近交系大鼠品系, 也可以鉴定实验大鼠品系的遗传污染, 还可用于实验动物生产单位核心种群背景的定期检测。

3.2 检测方案可行

多重PCR与普通PCR相比, 更加快捷和经济, 但多重PCR要求在同一反应体系内对多个位点进行特异性扩增, 因而引物间的配对与竞争性扩增均会严重影响扩增效果。高质量的DNA聚合酶能减少PCR反应初



注：A1、B1、C1、D1分别为本机构检测的第1组、第2组、第3组、第4组SNP位点的电泳结果峰图；A2、B2、C2、D2分别为第三方实验室检测的第1组、第2组、第3组、第4组SNP位点的电泳结果峰图。

Note: A1-D1, electrophoretic peak maps of SNP sites in group 1-4 tested by our institution. A2-D2, electrophoretic peak maps of SNP sites in group 1-4 tested by the third-party laboratory.

图3 不同实验室内大鼠SNP多重PCR-LDR检测结果比较(以CXB大鼠为例)

Figure 3 Comparison of multiplex PCR-ligase detection reaction (LDR) results among different laboratories (using CXB rats as an example)

期因引物错配而产生的非特异性扩增，从而显著提高了特异性产物的扩增效率。DNA聚合酶的扩增成效决定了多重PCR-LDR检测体系的成败。在本实验中，多重PCR-LDR方案需要选择高保真、热稳定的DNA聚合酶。为了验证多重PCR-LDR方案的准确性和通用性，近交系大鼠SNP遗传检测方案构建后，又通过一代测序法对比验证了本方案中的SNP位点，证明本方案具有很好的准确性。

本研究比较了市面上常用的3种多重PCR DNA聚合酶，即Multiplex PCR Kit（酶1）、AmpliTaQ Gold™ 360 DNA聚合酶（酶2）和Platinum II Taq热启动DNA聚合酶（酶3）的检测效果。酶1来自国内，酶2和酶

3来自国外。结果显示，酶1和酶2在所有40个位点中都有相同的结果，说明国产的DNA聚合酶可以应用于本方案；酶3在第4组SNP Panel中有一个SNP位点未出结果，说明应用酶3时需要对该位点单独做PCR扩增。另外，酶1、酶2和酶3分摊到每个样本的检测成本相近。因此不同实验室可根据各自实际情况选择不同的DNA聚合酶。这些结果提示，本研究所构建的多重PCR-LDR检测方案具有较好的稳定性和重复性，相较目前实验动物行业常用的单重检测方案，本方案显著提升了时效，同时又降低了成本。

3.3 我国大鼠近交系遗传现状

我国大部分大鼠、小鼠种质资源已引入多年，亲

表3 国内不同供应商来源的常用近交系大鼠的SNP多重PCR-LDR检测结果

Table 3 Multiplex PCR-ligase detection reaction (LDR) test results of inbred rat strains from different domestic animal supplies

SNP 标记名			不同品系大鼠的基因型 Genotype of different strains of rats														
序号	称	染色体															
No.	Reference SNP ID	Chromosome	F344/ BKI	BN/ BKI	DA/ BKI	PVG/ BKI	Lewis/ BKI	SHR/ Slac	GK/ Slac	F344/ JclSlac	Wistar/ Slac	WKY/ Slac	CXB	CHN1	CHN2	CHN5	
a1	rs65970293	chr1	C/C	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	
a2	rs106996961	chr2	T/T	G/G	G/G	T/T	G/G	G/G	G/G	T/T	T/T	G/G	G/G	G/G	G/G	T/T	
a3	rs63860341	chr3	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	
a4	rs64750237	chr4	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	
a5	rs107261116	chr5	C/C	G/G	C/C	C/C	C/C	G/G	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	G/G	G/G	
a6	rs64102787	chr6	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	A/A	A/A	C/C	C/C	A/A	C/C	C/C	C/C	A/A	
a7	rs105187832	chr7	G/G	G/G	T/T	G/G	T/T	G/G	T/T	G/G	T/T	T/T	G/G	G/G	G/G	G/G	
a8	rs64682441	chr9	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	
a9	rs65067166	chr10	C/C	G/G	G/G	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	G/G	G/G	G/G	G/G	
a10	rs8167985	chr11	G/G	T/T	G/G	G/G	G/G	T/T	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	
b1	rs106672258	chr12	T/T	T/T	T/T	C/C	T/T	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	
b2	rs65921305	chr13	G/G	T/T	G/G	G/G	T/T	G/G	G/G	G/G	T/T	G/G	G/G	G/G	G/G	T/T	
b3	rs106458396	chr15	T/T	T/T	T/T	C/C	T/T	C/C	T/T	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	
b4	rs106888236	chr16	C/C	C/C	A/A	A/A	C/C	A/A	A/A	C/C	A/A	C/C	C/C	A/A	A/A	C/C	
b5	rs63814610	chr17	T/T	C/C	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	T/T	C	T/T	T/T	T/T	
b6	rs8152541	chr18	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A	
b7	rs105824121	chr19	G/G	A/A	G/G	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	G/G	
b8	rs13453252	chr20	G/G	G/G	C/C	G/G	G/G	G/G	C/C	G/G	C/C	C/C	G/G	G/G	G/G	G/G	
b9	rs65108991	chrX	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	C/C	A/A	A/A	A/A	C/C	A/A	A/A	A/A	A/A	
c1	rs106891788	chr1	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	
c2	rs107493604	chr2	A/A	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	
c3	rs65632519	chr3	T/T	A/A	A/A	T/T	T/T	A/A	A/A	T/T	T/T	T/T	A	T/T	T/T	T/T	
c4	rs17163178	chr4	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	
c5	rs105170847	chr5	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	
c6	rs106547562	chr6	A/A	C/C	C/C	C/C	A/A	C/C	C/C	A/A	A/A	C/C	A/A	A/A	A/A	C/C	
c7	rs65502317	chr7	C/C	C/C	C/C	C/C	A/A	A/A	A/A	C/C	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	C/C	
c8	rs105694545	chr8	G/G	A/A	G/G	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	G/G	A/A	A/A	
c9	rs65801920	chr9	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	C/C	T/T	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	
c10	rs105168947	chr10	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T	C/C	
c11	rs106880606	chr11	G/G	T/T	T/T	G/G	T/T	T/T	T/T	G/G	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	G/G	
d1	rs8158863	chr12	A/A	A/A	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A	A/A	A/A	G/G	
d2	rs105965886	chr13	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	
d3	rs63919332	chr14	C/C	C/C	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	C/C	C/C	C/C	C/C	
d4	rs65809306	chr15	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	C/C	C/C	T/T	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	C/C	
d5	rs65087257	chr16	A/A*	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	C/C	C/C*	C/C	A/A	C/C	A/A	A/A	C/C	
d6	rs106021355	chr17	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	C/C	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	T/T	
d7	rs106171441	chr18	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	
d8	rs106777713	chr19	G/G*	A/A	A/A	G/G	A/A	T/T	C/C	T/T*	T/T	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T	
d9	rs104937988	chr20	T/T	G/G	T/T	T/T	T/T	G/G	G/G	T/T	T/T	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	
d10	rs105294203	chrX	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	A/A	G/G	G/G	G/G	G/G	G/G	

注：BN/BKI、F344/BKI、DA/BKI、PVG/BKI、Lewis/BKI 大鼠来自 A 单位，WKY/Slac、SHR/Slac、F344/JclSlac、GK/Slac、Wistar/Slac 大鼠来自 B 单位，CHN1、CHN2、CHN5、CXB 大鼠来自 C 单位；*为来自不同动物供应商的 F344 大鼠中基因型存在差异的 SNP 位点。

Note: BN/BKI, F344/BKI, DA/BKI, PVG/BKI, Lewis/BKI come from Unit A; WKY/Slac, SHR/Slac, F344/JclSlac, GK/Slac, Wistar/Slac come from Unit B; CHN1, CHN2, CHN5, CXB come from Unit C; * are the different genotypes on SNP locus of the F344 rats from different animal suppliers.

本配子的突变率是 1.2×10^{-8} /代, 实验动物在较长时间的传代过程中, 其遗传背景可能发生了变异^[13]。本研究中, 用构建的多重PCR-LDR检测方案分析了国内B、C两家供应商的9个常用大鼠近交系品系。从两家机构的F344检测结果来看, 所有样本在每个位点均为纯合子, 都符合近交系遗传质量检测要求。进一步对比两家机构的F344遗传检测结果发现, 在40个SNP位点中, 有2个SNP位点出现差异, 但这2个SNP位点都不在编码基因序列内, 即SNP所致序列的不同可能不影响蛋白质的氨基酸序列, 对生物性状的影响较小, 因此两家机构的F344差异不显著。这些结果提示, 以后在遗传检测的基础上, 需定期检测各自机构内动物的遗传背景, 及时发现差异, 从而确保其遗传质量的可靠性。

综上所述, 本研究成功建立了基于多重PCR-LDR技术的覆盖所有常染色体与X染色体的大鼠SNP组合检测方案, 具有较好的稳定性、准确性和重复性, 可推广应用。本研究后续会利用生物信息分析进一步筛选区分更多大鼠品系的SNP位点, 并在更多的近交系大鼠品系和群体中加以验证。

[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]

本研究涉及的所有动物采样及检测实验过程均严格遵守本实验室管理制度, 并通过上海实验动物研究中心实验动物管理和伦理委员会审查批准(批准号: 202201202)。

All samples of this study were collected in animals and tested strictly following laboratory regulations, and approved by the IACUC of Shanghai Laboratory Animal Research Center (Approval Letter No. 202201202).

[作者贡献 Author Contribution]

赵丽亚负责PCR-LDR方案构建、实验操作、实验指导、论文方法、结果部分撰写;

倪丽菊负责基因组DNA制备、论文摘要及讨论部分撰写、论文修订;

张彩勤、汤建平、姚养正负责采样及验证;

聂艳艳、顾晓雪负责样本检测、数据分析;

赵莹负责实验整体设计、研究指导、论文修订。

[利益声明 Declaration of Interest]

所有作者均声明本文不存在利益冲突。

[参考文献 References]

- [1] BENAVIDES F, RÜLICHE T, PRINS J B, et al. Genetic quality assurance and genetic monitoring of laboratory mice and rats: FELASA Working Group Report[J]. Lab Anim, 2020, 54(2): 135-148. DOI: 10.1177/0023677219867719.
- [2] HOFFMAN H A. 实验动物遗传质量的控制重点在遗传监测[J]. 上海实验动物科学, 1987, 7(1): 55-57.
HOFFMAN H A. The key to controlling the genetic quality of experimental animals is genetic monitoring[J]. Shanghai Lab Anim Sci, 1987, 7(1): 55-57.
- [3] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 实验动物 遗传质量控制: GB 14923—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of the People's Republic of China. Laboratory animal-Genetic quality control: GB 14923-2022[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022.
- [4] 杨玲焰, 王立鹏, 时长军. 一种基于KASP的大鼠遗传质量监控SNP标记分型方法及试剂盒: CN201910648812X[P/OL]. 2019-11-15[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
YANG L Y, WANG L P, SHI C J. A SNP marker typing method and kit based KASP for monitoring rat genetic quality: CN201910648812X[P/OL]. 2019-11-15[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
- [5] 据存祥, 赵静, 马秀英, 等. 一种近交系遗传质量监控的SNP快速检测方法和SNP位点及其引物: CN108588236A[P/OL]. 2018-09-28[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
JU C X, ZHAO J, MA X Y, et al. Rapid SNP detection method for genetic quality monitoring of inbred lines and SNP sites and primers: CN108588236A[P/OL]. 2018-09-28[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
- [6] 据存祥, 赵静, 杨旭乐, 等. 一组用于BALB/cJ近交系小鼠遗传质量监控的SNP位点及其引物组合和应用: CN110358847A[P/OL]. 2019-10-22[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
JU C X, ZHAO J, YANG X L, et al. A set of SNP sites and primer combinations and applications for genetic quality control in BALB/cJ inbred mice: CN110358847A[P/OL]. 2019-10-22[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
- [7] 赵静, 据存祥, 马秀英, 等. 一组用于CBA/CaJ近交系小鼠遗传质量监控的SNP位点及其引物组合和应用: CN109609659A[P/OL]. 2019-04-12[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
ZHAO J, JU C X, MA X Y, et al. A set of SNP sites and their primer combinations and applications for genetic quality monitoring in CBA/CaJ inbred mice: CN109609659A[P/OL]. 2019-04-12[2023-05-10]. <http://epub.cnipa.gov.cn/Dxb/IndexQuery>.
- [8] 王刚, 李凯, 周宇荀, 等. 新型通用探针LDR分型技术的开发及细胞色素P450基因多位点分型[J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2008, 34(4): 503-508. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3080.2006.09.008.
WANG G, LI K, ZHOU Y X, et al. Improvement of novel LDR genotyping system based on universal probe and the SNPs typing of human P450[J]. J East China Univ Sci Technol Nat Sci Ed, 2008, 34(4): 503-508. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3080.2006.09.008.
- [9] 徐园, 钱强, 鲍世民, 等. 基于高通量靶向测序的大鼠遗传质量检测方案建立[J]. 生物化工, 2020, 6(4): 65-69. DOI: 10.3969/j.issn.2096-0387.2020.04.016.
XU Y, QIAN Q, BAO S M, et al. Establishment of rat genetic quality detection scheme based on high throughput targeted sequencing[J]. Biol Chem Eng, 2020, 6(4): 65-69. DOI: 10.3969/j.issn.2096-0387.2020.04.016.

[10] SAAR K, BECK A, BIHOREAU M T, et al. SNP and haplotype mapping for genetic analysis in the rat[J]. Nat Genet, 2008, 40(5):560-566. DOI: 10.1038/ng.124.

[11] PETKOV P M, DING Y M, CASSELL M A, et al. An efficient SNP system for mouse genome scanning and elucidating strain relationships[J]. Genome Res, 2004, 14(9): 1806-1811. DOI: 10.1101/gr.2825804.

[12] TAFT R A, DAVISSON M, WILES M V. Know thy mouse[J]. Trends Genet, 2006, 22(12): 649-653. DOI: 10.1016/j.tig.2006.09.010.

[13] MEKADA K, HIROSE M, MURAKAMI A, et al. Development of SNP markers for C57BL/6N-derived mouse inbred strains[J]. Exp Anim, 2015, 64(1):91-100. DOI: 10.1538/expanim.14-0061.

(收稿日期:2023-06-09 修回日期:2023-08-08)
(本文编辑:张俊彦,富群华,丁宇菁,周晓铎)

[引用本文]

赵丽亚,倪丽菊,张彩勤,等.基于多重PCR-LDR技术建立近交系大鼠单核苷酸多态性遗传检测方案[J].实验动物与比较医学,2023,43(5):548-558. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.073.

ZHAO L Y, NI L J, ZHANG C Q, et al. Establishing a genetic detection protocol of single nucleotide polymorphisms panel in inbred rats based on multiplex PCR-LDR[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43(5): 548-558. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.073.

《实验动物与比较医学》常用英文缩略词表

英文缩略词	英文全称	中文全称(备注)
WHO	World Health Organization	世界卫生组织
FDA	Food and Drug Administration	食品药品监督管理局(美国)
SPF	specific pathogen-free	无特定病原体
PCR	polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
CT	computerized tomography	计算机体层摄影
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附测定
CCK8	cell counting kit 8	细胞计数试剂盒-8
MTT	thiazolyl blue	噻唑蓝(细胞增殖活性检测试剂)
BCA	bicinchoninic acid	二辛可宁酸(蛋白浓度测定试剂)
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
SDS	sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
DMSO	dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid	乙二胺四乙酸
SP	streptavidin-peroxidase	链霉抗生物素蛋白-过氧化物酶
HE	hematoxylin and eosin	苏木精-伊红
DAB	3,3'-diaminobenzidine	二氨基联苯胺
ddH ₂ O	distillation-distillation H ₂ O	双蒸水
PBS	phosphate-buffered saline	磷酸盐缓冲溶液
DPBS	Dulbecco's phosphate-buffered saline	杜氏磷酸盐缓冲液
PBST	phosphate-buffered saline with Tween-20	含Tween-20的磷酸盐缓冲液
TBST	Tris-buffered saline with Tween-20	含Tween-20的Tris盐缓冲液
DEPC	diethylpyrocarbonate	焦碳酸二乙酯
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole	4',6-二脒基-2-苯基吲哚
FITC	fluorescein insothiocyanate	异硫氰酸荧光素
PE	phycoerythrin	藻红蛋白
PVDF	polyvinylidene difluoride	聚偏二氟乙烯
RIPA	radio immunoprecipitation assay	放射免疫沉淀法
FBS	fetal bovine serum	胎牛血清
BSA	bovine serum albumin	牛血清白蛋白
PI	propidium iodide	碘化丙啶
Bcl-2	B-cell lymphoma-2	B淋巴细胞瘤-2基因
GAPDH	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	甘油醛-3-磷酸脱氢酶(内参)
Ras	rat sarcoma gene	大鼠肉瘤基因
DNA	deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
RNA	ribonucleic acid	核糖核酸
cDNA	complementary DNA	互补(反向转录)DNA
siRNA	small interfering RNA	小干扰RNA
miRNA	microRNA	微RNA