

柳慧敏,何茜,贾瑞莲,等. 干扰素- γ 基因敲除小鼠饲养繁殖方法的优化[J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(4): 489-500.

LIU H M, HE X, JIA R L, et al. Optimization of feeding and breeding methods for interferon- γ knockout mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(4): 489-500.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.04.003

干扰素- γ 基因敲除小鼠饲养繁殖方法的优化

柳慧敏,何茜,贾瑞莲,李娜,许瑞,冯耀宇,肖立华,郭亚琼*

(华南农业大学,动物疫病防控全国重点实验室,广州 510642)

【摘要】 目的 繁育获得干扰素- γ 基因敲除纯合子(IFN- $\gamma^{-/-}$)小鼠,并改善繁育策略,建立稳定的干扰素- γ 基因敲除纯合子(IFN- $\gamma^{-/-}$)小鼠繁育体系,为相关研究提供理想的动物模型。方法 首先以C57BL/6J为背景的IFN- γ 基因敲除杂合子(IFN- $\gamma^{+/-}$)小鼠作为亲本进行繁育。之后,基于获得的子代小鼠,采用3种配种方式进行繁育:(1)雌性杂合子与雄性杂合子;(2)雄性纯合子与雌性杂合子;(3)雌性纯合子与雄性纯合子。并比较子代中IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的数量和存活情况,筛选最优繁育策略。在最优繁育策略下,评估雌鼠配种周龄和饲料种类对IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠繁殖性能的影响,共统计60只IFN- $\gamma^{-/-}$ 雌鼠的前3胎窝产仔数、离乳存活数和离乳存活率,同时记录和分析了孕鼠营养补充、放置遮蔽物等环境优化措施对繁育效果的影响。结果 在通过添加蛋黄以及瓜子充分保障孕鼠营养的条件下,雌性和雄性IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠配种,单胎新生IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠存活数为5~8只,繁育获得的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的效率优于其他配种模式。此外,饲料种类和配种周龄对雌鼠繁殖性能影响显著,7~9周龄的雌性与雄性IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠合笼配种并且饲喂繁殖饲料时,雌鼠的窝产仔数(6.9 \pm 1.7)、离乳存活数(6.5% \pm 2.0%)和离乳存活率(93.2% \pm 17.8%)均高于其他繁育条件。另外,通过放置遮蔽物预防种鼠打架有助于提高繁殖效果。结论 采用优化的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠配种策略,结合高蛋白饲料饲喂、营养补充及规范化配种周龄管理,可显著提高IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的繁育效率和稳定性,为相关研究提供可靠的动物模型支持。

【关键词】 干扰素- γ ;基因敲除小鼠;饲养;繁殖

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2025)04-0489-12

Optimization of feeding and breeding methods for interferon- γ knockout mice

LIU Huimin, HE Xi, JIA Ruilian, LI Na, XU Rui, FENG Yaoyu, XIAO Lihua, GUO Yaqiong*

(State Key Laboratory for Animal Disease Control and Prevention, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Corresponding author: GUO Yaqiong. E-mail: guoyq@scau.edu.cn

【Abstract】 Objective The purpose of the study is to breed homozygous interferon- γ knockout (IFN- $\gamma^{-/-}$) mice and optimize the breeding strategies to achieve continuous and stable reproduction of IFN- $\gamma^{-/-}$ mice, which could be used as an ideal animal model for fundamental research. **Methods** Initially, heterozygous IFN- γ knockout (IFN- $\gamma^{+/-}$) C57BL/6J mice were used as the parental generation for breeding. Subsequently, 3 breeding strategies were

【基金项目】 国家自然科学基金(32273032),广东省基础与应用基础研究基金(2024B1515020116)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (32273032), Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2024B1515020116).

【作者简介】 柳慧敏,女,在读硕士研究生,研究方向:兽医寄生虫学。Email:huiminliu4512@126.com

【通信作者】 郭亚琼,女,博士,副教授,研究方向:兽医寄生虫学。Email:guoyq@scau.edu.cn

employed using the offspring: (1) female heterozygotes mated with male heterozygotes; (2) male homozygotes mated with female heterozygotes; (3) female homozygotes mated with male homozygotes. The number and survival rate of IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were compared across the three breeding strategies to determine the optimal breeding strategy. Under the optimal strategy, the effects of female mating age and diet type on the reproductive performance of IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were further evaluated. Data from the first three litters of 60 IFN- $\gamma^{-/-}$ female mice, including litter size, number of weaning survivors, and weaning survival rate, were recorded and analyzed. In addition, the effects of dietary supplementation of pregnant mice and environmental optimization measures, such as the provision of shelters, were evaluated. **Results** Under conditions where the nutritional needs of pregnant mice were adequately met by supplementation with egg yolk and sunflower seeds, mating of female and male IFN- $\gamma^{-/-}$ mice resulted in a litter size of five to eight IFN- $\gamma^{-/-}$ mice, demonstrating higher efficiency compared to other breeding strategies. In addition, diet type and mating age significantly influenced female reproductive performance. When 7 ~ 9 weeks old female IFN- $\gamma^{-/-}$ mice were mated to male IFN- $\gamma^{-/-}$ mice and fed a high-protein breeding diet, litter size (6.9 ± 1.7), weaning survival number ($6.5\% \pm 2.0\%$) and weaning survival rate ($93.2\% \pm 17.8\%$) were higher than those under other conditions. In addition, providing shelters to prevent fighting between breeding pairs further improved reproductive outcomes. **Conclusions** By adopting an optimized breeding strategy, combined with a high-protein diet, nutritional supplementation, and standardized mating age management, the breeding efficiency and stability of IFN- $\gamma^{-/-}$ mice can be significantly improved. This provides a reliable animal model for related research.

【Keywords】 interferon- γ ; gene knockout mouse; feeding; reproduction

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 是一种在动物机体固有免疫和适应性免疫中发挥重要作用的细胞因子,由活化的 T 细胞和 NK 细胞分泌,具有抗病毒、抗寄生虫、抗肿瘤、抑制细胞增殖及调节机体免疫等作用^[1]。1993 年,有研究对 C57BL/6J 小鼠基因组的 IFN- γ 基因进行破坏后得到了免疫缺陷小鼠品系 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠^[2]。目前,以 C57BL/6J 为背景的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在国内外研究中广泛使用,常应用于寄生虫感染^[3-5]、病毒感染^[6-7]、免疫调控^[8-9]、肿瘤及心血管疾病^[10-11] 等方面。

目前 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的获得方式通常是购买 IFN- $\gamma^{+/-}$ 种鼠,使用传统的育种方式即雌性杂合子与雄性杂合子交配来获得 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠。然而在繁育过程中发现,杂杂配种获得的子代中纯合子的占比极低;对小鼠繁育后代的生存能力有一定消极影响^[12];花费较高,对于高校科研课题组来说不是最佳选择。另外,在包括 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在内的基因敲除纯合子小鼠繁育过程中,也常面临雌鼠体质较弱、流产,新生小鼠离乳存活率低等问题,无法实现纯合子小鼠的稳定遗传^[13]。所以建立稳定高效的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠模型具有重要的意义。

为了低成本且高效地稳定获得 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠,本研究于 2018 年 6 月从中国医学科学院医学实验动物研究所引进 IFN- $\gamma^{+/-}$ 种鼠,在华南农业大学实验动物中心内进行饲养繁殖。对子代的基因型进行鉴定及筛选后,成功获得健康的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠后代,并进一步对亲本小鼠的配种方法和饲养繁殖措施进行探讨和优化,为 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的稳定遗传和可持续繁育提供有价值的参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠(遗传背景:C57BL/6J,品系名:B6.129S7-Ifng^{tm1Tz}/J)于 2006 年从美国杰克逊实验室(Jackson laboratory)引入我国,对应鼠种编号为 002287。4 只 SPF 级 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠,其中雄性 2 只,雌性 2 只,7 ~ 8 周龄,体质量为 16 ~ 20 g,购自中国医学科学院医学实验动物研究所【SCXK(京)2024-0009】,饲养于华南农业大学实验动物中心【SYXK(粤)2024-0136】。饲养环境:环境温度为 18 ~ 22 $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 50% ~ 60%,光照明暗控制各为 12 h,小鼠自由饮食。本研究通过华南农业大学实验动物伦理委员会审查批准

(2022F093, 2023F201)。

1.1.2 主要试剂与仪器

EasyPure[®] Genomic DNA Kit(北京全式金生物科技股份有限公司, 中国, 货号: EE101-01)、TaKaRa LA Taq[®] Hot Start Version(宝生物工程(大连)有限公司, 日本, 货号: RR042)和 TaKaRa LA Taq[®] with GC Buffer(宝生物工程(大连)有限公司, 日本, 货号: RR02AG)、6 × DNA 上样缓冲液(广州东盛生物科技有限公司, 中国, 货号: M9041)、100 bp DNA Ladder(广州东盛生物科技有限公司, 中国, 货号: M1062)、琼脂糖(安徽白鲨生物科技有限公司, 中国, 货号: BS081-100g)、大小鼠维持饲料(北京市科澳协力饲料有限公司, 中国, 货号: 1016706714625204224)和实验鼠生长繁殖饲料(江苏省协同医药生物工程有限责任公司, 中国, 货号: XTI01FZ-003)(如表 1 所示)。独立通风笼具(individually ventilated cages, IVC)(苏州市君圣实验动物设备有限公司, 中国); 恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司, 中国); Veriti[®] 96-well Thermal Cycler PCR 仪(ABI, MA, 美国); 琼脂糖凝胶电泳系统(Bio-Rad, 美国); 多功能凝胶成像仪(Aanalytik Jena, 德国)。

表 1 本研究所采用的两种商品化饲料的主要营养成分

Table 1 Main nutrients of two commercial feed used in this study

养分 Nutrients	维持饲料 Maintenance feed	生长和繁殖饲料 Growth and breeding diet
水分 Moisture	≤ 10%	≤ 10%
粗蛋白 Crude protein	≥ 18%	≥ 20%
粗脂肪 Crude fat	≥ 4%	≥ 4%
粗纤维 Crude fiber	≤ 5%	≤ 5%
粗灰分 Crude ash	≤ 8%	≤ 8%
钙 Calcium	1.0% ~ 1.8%	1.0% ~ 1.8%
总磷 Total phosphorus	0.6% ~ 1.2%	0.6% ~ 1.2%

1.2 方法

1.2.1 小鼠的信息记录

每周定期更换垫料、食物和饮用水, 对配种

小鼠定期给予营养。在配种过程中, 每天进入动物房 1 次, 观察配种小鼠的饲养情况, 并做详细记录, 包括是否怀孕、产仔数量、子代和雌鼠健康状况。

1.2.2 小鼠的基因型鉴定方法

将引进的 IFN- $\gamma^{+/-}$ 种鼠进行配种, 根据孟德尔定律, 其子代可能为杂合子(IFN- $\gamma^{+/-}$)、纯合子(IFN- $\gamma^{-/-}$)和野生型(IFN- $\gamma^{+/+}$)。为获得 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠, 需要对子代小鼠的 IFN- γ 基因位点的基因型进行鉴定, 具体方法如下:

(1) 小鼠趾尖基因组 DNA 提取: 剪取 10 ~ 14 d 的子代小鼠趾尖组织, 置于无菌的 1.5 mL 离心管中, 用 EasyPure[®] Genomic DNA Kit 对小鼠组织进行基因组 DNA 提取, 将提取好的 DNA 置于 -20 °C 的冰箱中备用。

(2) PCR 反应体系: 对提取的小鼠基因组 DNA 进行巢式 PCR 鉴定, 引物序列由 Jackson Laboratory 官网(<https://www.jax.org/strain/002287>)提供, oIMR8285: 5' -AGGGAAGCTGGGAGAGGAGAAATAT-3'; oIMR8284: 5' -AGAAGTAA GTGGAAGGGCCCAGAAG-3'; oIMR6218: 5' -CCT TCTATCGCCTTCTTGACG-3', 由上海生工生物工程技术有限公司合成, 为干粉状。根据基因型鉴定试剂盒的使用说明配制 21 μ L PCR 反应体系进行扩增反应。在 1.5 mL 离心管中分别加入 2 × GC Buffer I 10 μ L、dNTP Mixture 1.6 μ L、oIMR6218 (10 pmol/ μ L) 1 μ L、oIMR8284 (10 pmol/ μ L) 1 μ L、oIMR8285 (10 pmol/ μ L) 1 μ L、LA Taq HS (5 U/ μ L) 0.1 μ L、ddH₂O 5.3 μ L 和 DNA 模板 1 μ L。

(3) PCR 反应条件: 使用 PCR 仪进行扩增, PCR 反应循环体系设定为: ① 预变性 94 °C 15 min; ② 变性 94 °C 20 s, 退火 65 °C 15 s, 延伸 68 °C 10 s, 循环 10 次, 且每个循环退火温度下降 0.5 °C; ③ 变性 94 °C 15 s, 退火 60 °C 15 s, 延伸 72 °C 10 s, 循环 28 次; ④ 72 °C 2 min, 终止反应。

(4) 琼脂糖凝胶电泳: 向 2% 琼脂糖凝胶孔中加入 10 μ L 混合了 DNA 上样缓冲液的 PCR 产物, 随后调节电泳槽电压为 110 V 和工作时间为 42 min 进行电泳, 电泳结束后在凝胶成像仪中对 PCR 产物进行观察分析。

(5) 基因型结果判定: 根据 PCR 产物条带位

置判断小鼠的基因型情况 (<https://www.jax.org/strain/002287>)。引物 oIMR8285 和 oIMR6218 扩增产物片段长度为 500 bp, 若 PCR 产物为该长度, 则 PCR 产物对应小鼠为 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠; oIMR8285 和 oIMR8284 引物扩增长度为 210 bp, 则 PCR 产物对应小鼠为野生型小鼠; 若 PCR 产物中同时存在 500 bp 和 210 bp 条带, 则对应小鼠为 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠。

1.2.3 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的获得

首先将购买的 4 只 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠进行适应性饲养, 达到 8 周龄性成熟和体成熟后, 通过传统的杂合子和杂合子交配的配种方式以雌雄 1:1 的比例进行合笼配种。繁育获得第一胎子代后, 对 10 ~ 14 日龄的子代进行基因型鉴定, 在小鼠 3 周龄时, 根据基因型鉴定结果和性别分笼饲养。为了进一步扩大种群, 将 6 ~ 8 周龄雌性和雄性 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠以 2:1 的比例进行多次配种, 确保能够稳定持续地生产子代。

进一步, 为了能高效获得更多的纯合子小鼠, 将配种方式优化为纯合子和杂合子交配的配种方式。考虑到雌性纯合子体质较弱, 所以选雌性杂合子与雄性纯合子交配。观察子代情况, 确保每窝产仔数目稳定后, 再对配种方式进行调整。最后, 将获得的纯合子子代相互交配, 根据雌鼠在繁殖过程中出现的问题进行相应的调整, 确保雌鼠能够稳定生产。在繁育过程中, 种鼠均采用雌雄长期同居法(雌雄比例为 2:1), 所生产的乳鼠均在 3 周左右分笼。比较 3 种配种方式的优缺点, 并且在每种配种方式的雌鼠能稳定生产后, 统计 10 只雌鼠在 3 个月内的受孕胎数、子代各基因型数量和子代总数, 并且对获得的纯合子小鼠数目进行统计学分析。

1.2.4 小鼠饲养条件及繁育措施的优化

在确定纯合子和纯合子配种可稳定产生子代后, 为了能进一步确定不同配种周龄以及饲料种类对小鼠繁育情况的影响, 以优化繁育条件, 本研究随机选取了 60 只不同周龄配种以及饲喂不同种类商品化饲料的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 雌鼠, 统计其前 3 胎的窝产仔数、离乳存活数、离乳存活率。相关繁殖种鼠采取雌雄长期同居法进行配种, 每笼种鼠中雌雄配比为 2:1, 不同周龄的雌鼠(5 ~ 7 周龄和 7 ~ 9 周龄)分别与 6 ~ 7 周龄的雄鼠合

笼繁殖, 饲喂饲料分别为维持饲料和生长繁殖饲料, 具体 4 个分组为: (1) 饲喂维持饲料, 5 ~ 7 周龄的雌鼠与 6 ~ 7 周龄的雄鼠合笼繁殖($n = 15$); (2) 饲喂维持饲料, 7 ~ 9 周龄的雌鼠与 6 ~ 7 周龄的雄鼠合笼繁殖($n = 15$); (3) 饲喂生长繁殖饲料, 5 ~ 7 周龄的雌鼠与 6 ~ 7 周龄的雄鼠合笼繁殖($n = 15$); (4) 饲喂生长繁殖饲料, 7 ~ 9 周龄的雌鼠与 6 ~ 7 周龄的雄鼠合笼繁殖($n = 15$)。分别记录各组雌鼠生产的前 3 胎窝产仔数和离乳存活数, 并计算前 3 胎的子鼠离乳存活率(离乳存活率 = 离乳存活数/窝产仔数 \times 100%)。并且对繁殖过程中出现的雌鼠食仔、小鼠打斗、小鼠脱毛等问题进行总结与分析, 观察雌鼠配种周龄和两种不同商品化饲料以及其他因素对 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的繁殖性能的影响。

1.3 统计学分析

实验数据以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$) 的形式表示, 组间比较采用独立样本 t 检验。采用双因素方差分析(Two-way ANOVA)来探究不同配种周龄和不同饲料种类对雌鼠繁殖性能的影响, 并且分析了雌鼠配种周龄和饲料种类之间的交互作用, 以评估两种因素对雌鼠繁殖性能的综合影响。统计分析均在 SPSS 26.0 中完成, 以 $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的获得及鉴定

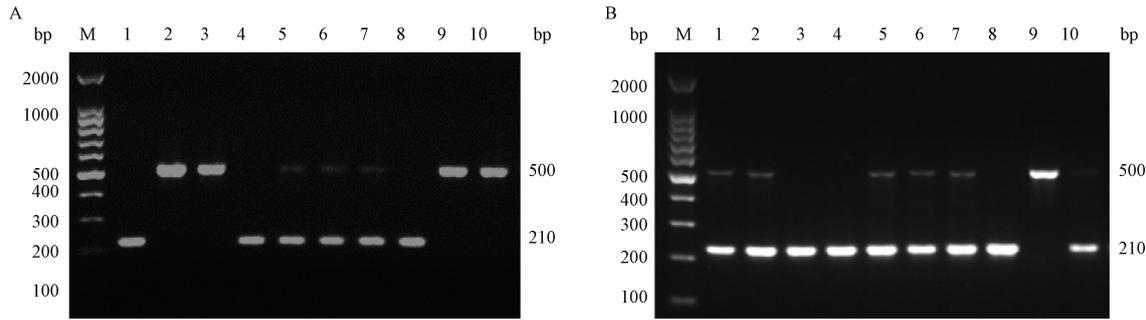
2.1.1 部分小鼠基因型鉴定结果

杂合子与杂合子交配获得的两窝子代小鼠趾尖基因组 DNA 扩增产物的凝胶电泳结果如图 1 所示。按照条带大小不同来区分小鼠的基因型, 在 500 bp 和 210 bp 处均观察到条带, 为 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠; 仅在 210 bp 处见单条带, 为野生型小鼠; 仅在 500 bp 处见单条带, 为 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠。

2.1.2 不同配种繁殖方法的比较选择

雌性 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠与雄性 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠交配、雌性 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠与雄性 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠交配、雌性 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠与雄性 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠交配, 三种不同配种繁殖方式均可获得 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠, 然而不同的配种方法各有利弊。

(1) 杂合子小鼠与杂合子小鼠交配(IFN- $\gamma^{+/-}$ $\text{♀} \times$ IFN- $\gamma^{+/-}$ ♂): 将引进的 2 对 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠进



注: M: DNA 标记; A: 2、3、9、10: IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠样品; 1、4、8: 野生型小鼠样品; 5、6、7: IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠样品; B: 1、2、5、6、7、10: IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠样品; 3、4: 野生型小鼠样品; 9: IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠样品。

图 1 部分子代小鼠基因型 PCR 鉴定结果

Note. M. DNA Marker. A. 2, 3, 9, 10. IFN- $\gamma^{-/-}$ mice sample. 1, 4, 8. Wild-type mice sample. 5, 6, 7. IFN- $\gamma^{+/-}$ mice sample. B. 1, 2, 5, 6, 7, 10. IFN- $\gamma^{+/-}$ mice sample. 3, 4. Wild-type mice sample. 9. IFN- $\gamma^{-/-}$ mouse sample.

Figure 1 Identification of genotypes of some offspring mice by PCR

行合笼配种,生产第一胎子代后发现小鼠存活数目为 4 ~ 6 只。待小鼠能稳定生产后,对小鼠进行了为期 3 个月的持续观察,10 只雌鼠共生产 13 胎小鼠。平均每胎新生小鼠离乳存活数为 6.8 只,离乳存活率为 92.7%,每胎可供纯合子小鼠数目为 2.2 只(见表 2)。此方式产生的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠体型较为健壮,但是数量较少,需要消耗大量基因型鉴定试剂盒以及人力。

(2) 杂合子小鼠与纯合子小鼠交配 (IFN- $\gamma^{+/-}$ ♀ × IFN- $\gamma^{-/-}$ ♂): 进一步将雌性 IFN- $\gamma^{+/-}$ 小鼠与雄性 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠交配,待小鼠生产稳定后,在 3 个月的持续观察中,10 只雌鼠共生产 12 胎小鼠。平均每胎新生小鼠离乳存活数为 6.6 只,离乳存活率为 96.8%,单胎可获得 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠为 2.6 只(见表 2)。此交配方式生产的子代 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠较少,仍旧需要消耗大量基因型鉴定试剂盒以及人力。

(3) 纯合子小鼠与纯合子小鼠交配 (IFN- $\gamma^{-/-}$

♀ × IFN- $\gamma^{-/-}$ ♂): 进一步将雌性和雄性 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠进行交配,发现雌鼠繁殖能力较差。部分种鼠配种后无法怀孕或者受孕后流产,存活的子代大多生长滞后,且存活时间不超过 3 周。在怀孕雌鼠笼内加入富含维生素 E 的灭菌瓜子以加强孕期营养后,雌鼠生育能力提高并且流产情况减少,受孕成功的雌鼠每胎新生小鼠全部为 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠。通过提高雌鼠营养,保障雌鼠能够稳定生产后,统计了 10 只雌鼠的繁殖情况,结果显示 10 只雌鼠共生产 17 胎小鼠。平均每胎可获得 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠为 6.7 只,显著高于杂合子互交和纯合子与杂合子交配的方式 ($P < 0.001$),新生小鼠的离乳存活率为 97.8%(见表 2)。因此,通过加强怀孕 IFN- $\gamma^{-/-}$ 雌鼠的营养供给,可以提高雌鼠繁育性能,产生大量的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠。相比杂合子与杂合子交配、纯合子与杂合子交配,纯合子与纯合子交配的方式生产效率更高,且节省了子代基因型鉴定的试剂和人力成本。

表 2 不同配种方式下 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的繁育情况 ($n = 10$)

Table 2 Breeding performance of IFN- $\gamma^{-/-}$ mice using different mating methods ($n = 10$)

配种方法 Methods ♀ × ♂	受孕胎数/ n Number of pregnancies/ n	子代各基因型数量/ n Each genotypes count in offspring/ n			子代总数/ n Total number of offspring/ n	纯合率/% Homozygosity rate/%	离乳存活率/% Weaned survival rate/%
		+/+	+/-	-/-			
IFN- $\gamma^{+/-}$ × IFN- $\gamma^{+/-}$	13	2.1 ± 1.2	3.0 ± 1.1	2.2 ± 1.7***	6.8 ± 2.6	31.5	92.7
IFN- $\gamma^{+/-}$ × IFN- $\gamma^{-/-}$	12	0	4.0 ± 2.0	2.6 ± 2.2***	6.6 ± 2.3	39.2	96.8
IFN- $\gamma^{-/-}$ × IFN- $\gamma^{-/-}$	17	0	0	6.7 ± 1.7	6.7 ± 1.7	100.0	97.8

注:与 IFN- $\gamma^{+/-}$ × IFN- $\gamma^{+/-}$ 相比, *** $P < 0.001$ 。

Note. Compared with IFN- $\gamma^{+/-}$ × IFN- $\gamma^{+/-}$, *** $P < 0.001$.

2.1.3 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠外形特征

在纯合子和纯合子配种方式下生产的新生纯合子小鼠,在外观形态上与野生型小鼠未见明显差异(图2)。1日龄新生 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠两眼紧闭、四肢蜷缩、皮肤无毛呈肉红色、两耳紧贴在皮肤上、活动能力有限,与野生型幼鼠无明显差异。21日龄成年 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠眼睛完全睁开、毛发发育完全、被毛为黑色、行动自如,与野生型 C57BL/6J 小鼠基本相同。

2.2 不同配种周龄、不同商品化饲料对 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠繁育性能的影响

如表3,通过对60只雌鼠的前3胎窝产仔数、离乳存活数、离乳存活率进行统计,观察不同配种周龄和饲喂不同商品化饲料对雌鼠的繁育

性能的影响。结果显示,雌鼠在7~9周龄配种的窝产仔数(6.2 ± 1.9)高于5~7周龄配种的窝产仔数($5.5 \pm 2.3, P = 0.05$);雌鼠在7~9周龄配种的离乳存活数(5.7 ± 2.1)显著高于在5~7周龄配种的离乳存活数($4.6 \pm 2.5, P = 0.002$);雌鼠在7~9周龄配种的离乳存活率(92.0 ± 19.7)显著高于在5~7周龄配种的离乳存活率($81.6 \pm 33.0, P = 0.011$);饲喂生长繁殖饲料雌鼠的离乳存活数(5.6 ± 2.4)显著高于饲喂维持饲料雌鼠的离乳存活数($4.7 \pm 2.3, P = 0.008$),饲喂生长繁殖饲料雌鼠的窝产仔数(6.1 ± 2.2)和离乳存活率($90.3\% \pm 23.6\%$)高于饲喂维持饲料雌鼠的窝产仔数(5.6 ± 2.1)和离乳存活率($83.3\% \pm 30.8\%$),但是差异无显著性($P > 0.05$)。



图2 不同日龄的 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠与 C57BL/6J 小鼠的外形特征

Figure 2 Appearance characteristics of IFN- $\gamma^{-/-}$ mice and C57BL/6J mice at different ages

表3 饲养条件对雌鼠繁殖性能的影响($n = 90$)

Table 3 Effects of rearing conditions on the reproductive performance of female mice($n = 90$)

饲养条件 Rearing conditions	配种周龄 Mating age in weeks		饲料种类 Type of feed	
	5~7周龄 5~7 weeks	7~9周龄 7~9 weeks	维持饲料 Maintenance feed	生长繁殖饲料 Breeding diet
窝产仔数/ n Litter size/ n	5.5 ± 2.3	6.2 ± 1.9	5.6 ± 2.1	6.1 ± 2.2
离乳存活数/ n Weaned survival number/ n	4.6 ± 2.5	$5.7 \pm 2.1^{**}$	4.7 ± 2.3	$5.6 \pm 2.4^{\wedge\wedge}$
离乳存活率/% Weaned survival rate/%	81.6 ± 33.0	$92.0 \pm 19.7^+$	83.3 ± 30.8	90.3 ± 23.6

注:与5~7周龄相比, $^+P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$;与饲喂维持饲料相比, $^{\wedge\wedge}P < 0.01$ 。

Note. Compared with 5~7 weeks, $^+P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$. Compared with maintenance feed, $^{\wedge\wedge}P < 0.01$.

不同配种周龄(5~7周龄和7~9周龄)、不同种类饲料(维持饲料和生长繁殖饲料)对60只雌鼠前3胎窝产仔数、离乳存活数、离乳存活率影响的双因素方差分析结果如表4所示。雌鼠配种周龄对雌鼠的窝产仔数($P = 0.044$)、离乳存活

数($P = 0.001$)、离乳存活率($P = 0.01$)均有显著性影响;饲料种类对离乳存活数有显著性影响($P = 0.006$),对窝产仔数和离乳存活率的影响未达到统计学显著性($P = 0.148, P = 0.081$);配种周龄和饲料种类对窝产仔数存在显著的互

表 4 不同饲养条件对雌鼠繁殖性能的双因素方差分析

Table 4 Two-way ANOVA of the reproductive performance of female mice under different rearing conditions

指标 Index	F 检验 P 值 F test P value		
	配种周龄 Mating age in weeks	饲料种类 Type of feed	配种周龄 × 饲料种类 Mating age in weeks × type of feed
窝产仔数/ <i>n</i> Litter size/ <i>n</i>	0.044	0.148	0.002
离乳存活数/ <i>n</i> Weaned survival number/ <i>n</i>	0.001	0.006	0.110
离乳存活率/% Weaned survival rate/%	0.010	0.081	0.249

作效应 ($P = 0.002$), 对离乳存活数和离乳存活率没有显著的互作效应 ($P = 0.11, P = 0.249$)。

如表 5, 进一步将不同配种周龄和不同种类饲料分组进行比较可知, 雌鼠在 7 ~ 9 周龄配种并且饲喂生长繁殖饲料的窝产仔数 (6.9 ± 1.7) 显著高于在 5 ~ 7 周龄配种并且饲喂维持饲料的窝产仔数 ($5.8 \pm 2.3, P = 0.014$)、在 5 ~ 7 周龄配种并且饲喂生长繁殖饲料的窝产仔数 ($5.3 \pm 2.3, P < 0.001$) 和在 7 ~ 9 周龄配种并且饲喂维持饲料的窝产仔数 ($5.4 \pm 1.9, P < 0.001$)。雌鼠在 7 ~ 9 周龄配种并且饲喂生长繁殖饲料的离乳存活数 (6.5 ± 2.0) 显著高于在 5 ~ 7 周龄配种并且饲喂维持饲料的离乳存活数 ($4.4 \pm 2.6, P < 0.001$)、在 5 ~ 7 周龄配种并且饲喂生长繁殖饲料的离乳存活数 ($4.8 \pm 2.4, P = 0.001$) 和在 7 ~ 9 周龄配种并且饲喂维持饲料的离乳存活数 ($5.0 \pm 2.0, P = 0.001$)。雌鼠在 7 ~ 9 周龄配种并且饲喂生长繁殖饲料的离乳存活率 ($93.2\% \pm$

17.8%) 显著高于在 5 ~ 7 周龄配种并且饲喂维持饲料的离乳存活率 ($75.7\% \pm 36.6\%, P = 0.005$), 与在 5 ~ 7 周龄配种并且饲喂生长繁殖饲料 ($87.5\% \pm 28.1\%, P = 0.246$) 和在 7 ~ 9 周龄配种并且饲喂维持饲料的离乳存活率 ($90.8\% \pm 21.6\%, P = 0.565$) 差异不显著。综上, 在 7 ~ 9 周龄与雄鼠合笼配种并且饲喂生长繁殖饲料的雌鼠繁殖性能更好。

2.3 其他因素对 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠繁育性能的影响

因 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在繁育过程中会出现多种情况, 从而影响小鼠繁殖性能, 难以实现扩繁。下面针对 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠繁殖问题进行了介绍以及调整。

2.3.1 雌鼠食仔

据观察, 雌鼠生产第一胎后会出现拒绝哺乳新生小鼠甚至食仔的情况 (图 3A)。随后采取措施来预防雌鼠食仔, 包括在笼内放置脱脂棉球供小鼠筑窝, 在生产前 1 周向笼内投放灭菌瓜子和

表 5 不同饲养条件对雌鼠繁殖性能的综合影响 ($n = 45$)

Table 5 Combined effects of different rearing conditions on the reproductive performance of female mice ($n = 45$)

饲养条件 Rearing conditions	窝产仔数/ <i>n</i> Litter size/ <i>n</i>	离乳存活数/ <i>n</i> Weaned survival number/ <i>n</i>	离乳存活率/% Weaned survival rate/%
5 ~ 7 周龄 × 维持饲料 5 ~ 7 weeks × maintenance feed	5.8 ± 2.3^a	4.4 ± 2.6^{aaa}	75.7 ± 36.6^{aa}
5 ~ 7 周龄 × 生长繁殖饲料 5 ~ 7 weeks × breeding diet	5.3 ± 2.3^{aaa}	4.8 ± 2.4^{aa}	87.5 ± 28.1
7 ~ 9 周龄 × 维持饲料 7 ~ 9 weeks × maintenance feed	5.4 ± 1.9^{aaa}	5.0 ± 2.0^{aa}	90.8 ± 21.6
7 ~ 9 周龄 × 生长繁殖饲料 7 ~ 9 weeks × breeding diet	6.9 ± 1.7	6.5 ± 2.0	93.2 ± 17.8

注: 与 7 ~ 9 周龄 × 生长繁殖饲料相比, $^a P < 0.05$, $^{aa} P < 0.01$, $^{aaa} P < 0.001$ 。

Note. Compared with 7 ~ 9 weeks × breeding diet, $^a P < 0.05$, $^{aa} P < 0.01$, $^{aaa} P < 0.001$.

熟鸡蛋黄为雌鼠补充营养(图 3B)。在产前 3 d 尽可能地避免惊扰雌鼠,在生产后减少对新生小鼠的检查以防特殊气味混入鼠笼内,若发现有啃食新生小鼠的情况,需将手套沾染种鼠粪便气味并快速取出小鼠尸体,避免血腥味刺激雌鼠吃更多的小鼠。

经过改善发现小鼠食仔的情况减少,母性行为较好的雌鼠会通过撕咬棉球筑出一个相对完整洁净的窝以供小鼠保暖(图 3C)。同时在食仔情况严重的雌鼠笼内观察到,放置的棉球呈现散乱并且沾有粪便食物残渣的状态(图 3D)。

2.3.2 小鼠打斗

在小鼠的饲养过程中,由于争夺配偶及食物资源、抢夺领地等原因,会出现互相撕咬导致小鼠背部撕裂、尾部断裂甚至死亡的情况(图 4A、图

4B),影响小鼠生长发育和扩大繁殖规模进度。一方面,在日常检查中发现攻击性强的小鼠及时作出分笼处理。另一方面,在饲养过程中发现种鼠合笼配种时放置沾有原先小鼠气味的脱脂棉球和提供遮蔽物来丰富笼内环境能够预防小鼠打架行为的出现(图 4C)。

2.3.3 小鼠脱毛

在繁育过程中,发现在同一窝子代中,有个别子代小鼠出现整个背部脱毛的现象(图 5A)。据观察,小鼠脱毛现象一方面是因雌鼠压力大、季节变换、饮食变化而为小鼠舔背梳毛过度,对于这种情况会在小鼠分笼后自行恢复(图 5B);另一方面是本品系在特定饲养条件下无法适应环境压力并且缺乏生理活动的体现,具有良性、可以缓解的特点。



注:A:雌鼠生产第一胎小鼠后母性较弱,拒绝哺乳导致小鼠全部死亡;B:在笼内放置脱脂棉球、瓜子和鸡蛋黄,以辅助雌鼠哺育小鼠;C:母性行为较强的小鼠撕咬棉球筑成的一个较整齐干净的窝;D:母性行为较差的雌鼠撕咬棉球筑成的一个无规则、沾染粪便食物残渣的窝。

图 3 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的母性行为表现及改善措施

Note. A. Female mouse produced her first litter of mice but refused to nurse, resulting in the death of all the mice. B. Degreased cotton balls, melon seeds and egg yolk were placed in the cage to assist female mice nursing. C. Mice with strong maternal behavior tore cotton balls to make a neat and clean nest. D. Mice with poor maternal behavior tear at an irregular, fecal-stained cotton ball nest.

Figure 3 Maternal behavioral performance in IFN- $\gamma^{-/-}$ mice and interventions

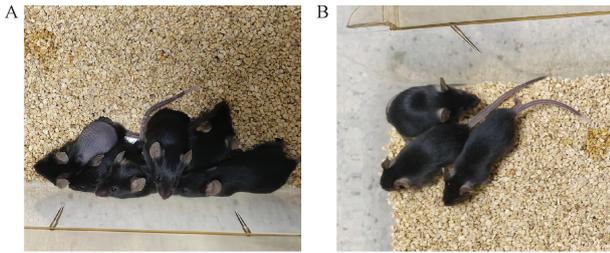


注:A:2只小鼠打架致背部皮肤撕裂;B:小鼠打架导致尾部受伤;C:通过放置遮蔽物和棉花来预防小鼠打架。

图 4 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠打斗导致受伤或死亡及相应预防措施

Note. A. Two mice fight resulting in a skin tear on the back. B. Mouse with a broken tail due to a fight. C. Mice were prevented from fighting by placing shelter and cotton.

Figure 4 Fight-related injury or death in IFN- $\gamma^{-/-}$ mice and preventive measures



注: A: 同一窝小鼠中有个别小鼠背部脱毛; B: 分笼后, 小鼠背部重新长出毛发。

图 5 个别 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠脱毛及恢复情况

Note. A. Some mice in the same litter showed hair loss on their entire backs. B. Mice regrowing hair on their backs after separation of cages.

Figure 5 Hair loss and recovery in some IFN- $\gamma^{-/-}$ mice

3 讨论

IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的繁育较为困难, 主要体现在 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠相比正常雌鼠体质较弱、单胎产仔数量少、新生小鼠存活率低和发育缓慢等方面。这主要是由于 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠为重症免疫缺陷小鼠, 对饲养繁育环境要求较高, 小鼠的生长发育和健康状况与饲养环境、饲喂方法、小鼠饮水习惯等密切相关。由于不同实验室饲养环境并不完全一致, 因此同一种品系在不同实验室中的繁育情况也会存在差异^[14]。因此, 深入了解小鼠繁育性能, 根据实际情况制定恰当的繁育措施, 能够更有针对性地提升小鼠的繁殖能力。

在优化繁育条件的情况下, 采用雌雄 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠进行配种可持续稳定地获得优质纯合子子代。在本研究中, 通过优化小鼠配种方式(由起初的杂合子互交-杂合子和纯合子交配-纯合子互交)、选择 7 ~ 9 周龄的雌鼠用于配种繁育、更换实验鼠生长繁殖饲料、增加灭菌瓜子、放置遮蔽物等措施改善饲养条件^[15], 提高了纯合子繁育雌鼠的体质, 成功实现了 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠的扩繁, 获得的纯合子小鼠与直接购买的纯合子小鼠同样健康, 并可减少小鼠在长途运输过程中的应激反应。

相比雌性杂合子与雄性杂合子小鼠交配、雌性杂合子与雄性纯合子交配, 本研究所采用的雌性纯合子与雄性纯合子交配的方法, 雌鼠生产效率更高。在雌性杂合子与雄性杂合子以及雌性杂合子与雄性纯合子交配过程中, 选择剪取 10 ~

14 d 的子代小鼠趾尖组织进行基因型鉴定, 原因是子代小鼠年龄过小易导致小鼠死亡, 年龄过大时易导致出血过多且小鼠不易控制。同时, 根据鉴定结果及时淘汰杂合小鼠和野生型小鼠, 有助于给纯合子小鼠提供更多的生存空间并且降低饲养繁殖成本。此外, 体外受精 (*in vitro* fertilization, IVF)-胚胎移植 (embryo transfer, ET) 技术也可以实现 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠快速扩繁的目的^[16], 相比传统的配种方式具有以下优势: 节约饲养周期、可以实现快速扩繁、可以在同一时间获得实验需求的纯合子小鼠以便实验分组、可严格控制后代动物质量^[17]。但是存在技术复杂度高、实验成本较高、对操作人员要求较高等问题^[18]。

小鼠性成熟的时间通常为 6 ~ 8 周, 雌性性成熟时间较早。为了实现快速扩繁, 可采用 5 ~ 6 周龄的雌鼠进行配种^[13]。本研究使用 5 ~ 7 周龄的雌鼠配种和 7 ~ 9 周龄的雌鼠配种, 配种结果发现选择 7 ~ 9 周龄的雌鼠配种获得子代的效率更高, 观察发现子代小鼠体质更加健康。饲料对小鼠的生长、繁殖产生直接的影响^[19-20]。不同种类的商品化饲料在营养成分上存在差异, 其中蛋白质作为动物生长发育不可或缺的关键营养成分, 广泛参与并调节动物体内的多种生命活动过程。研究表明, 蛋白质摄入量不足会显著影响小鼠的免疫功能, 导致其免疫力下降^[21-22]。本研究中使用的生长繁殖饲料和维持饲料的主要营养成分差别在于蛋白质的含量不同, 生长繁殖饲料的蛋白质含量高于维持饲料 (20% > 18%)。实验结果表明, 实验鼠维持饲料和生长繁殖饲料都可以满足小鼠的日常生产, 但是繁殖饲料能明显的改善雌鼠的繁殖性能。并且在 7 ~ 9 周龄与雄鼠合笼配种并且饲喂生长繁殖饲料的雌鼠生产繁殖性能更好。

雌鼠食仔是基因工程小鼠繁育过程中常遇到的问题, 主要原因有雌鼠缺乏营养、饲养环境改变(温度过低、噪音过大)、生产过程中受到人为干扰等。可通过在妊娠雌鼠生产前补充营养、减少光照和噪音的干扰、在生产后及时取出死亡的新生小鼠来减少雌鼠食仔行为, 以及根据使用脱脂棉球建造和维护巢穴的行为来选择雌性行为较强的雌鼠^[23-25], 本研究发现通过以上措施显

著提升了雌鼠带仔能力。在小鼠的饲养过程中,由于争夺配偶及食物资源、抢夺领地、饲养环境噪音大、C57BL/6J 小鼠品系好斗等原因,会出现小鼠打斗的情况,影响小鼠生长发育和扩大繁殖规模进度。减少小鼠打斗的方法有:固定同一笼内的雄雌比例(雄:雌=1:2)避免多只雄鼠与雌鼠合笼配种,多只雌鼠也会对彼此出生乳鼠进行交叉哺乳,提高存活率^[26];合笼时,先放雌鼠再放雄鼠,否则雌鼠会攻击雄鼠;发现打斗时需及时对攻击性强的小鼠做出分笼处理;在日常换垫料时放置沾有原先小鼠气味的棉花,并且提供遮蔽物来丰富笼内环境。这些措施能够有效降低小鼠打架伤亡的情况,进一步提升 IFN- γ ^{-/-} 小鼠整体的繁育性能。小鼠脱毛主要分为病理性脱毛和非病理性脱毛,IFN- γ ^{-/-} 小鼠脱毛主要是由于非病理性脱毛。通常由于雌鼠压力大、季节变换、饮食变化而为子代小鼠过度理毛会导致小鼠脱毛,对于这种情况会在子代小鼠成年分笼后自行恢复。此外,由于 IFN- γ ^{-/-} 小鼠是以 C57BL/6J 为遗传背景的 IFN- γ 基因敲除小鼠,研究表明 C57BL/6J 近交系脱毛小鼠与正常小鼠皮肤毛囊形态学存在差异,有一定概率会自发脱毛。通过增加与雄鼠的同居、妊娠、生产及正常哺乳等生理活动、降低饲养密度、放置棉花以供撕咬等措施可以显著减少小鼠过度理毛和自然脱毛情况的发生^[27-28]。

IFN- γ ^{-/-} 小鼠已用于寄生虫学机制研究。本研究饲养繁育的 IFN- γ ^{-/-} 小鼠已用于微小隐孢子虫(*Cryptosporidium parvum*)的动物感染模型建立,解决了以往动物模型中隐孢子虫感染时间短、排泄量低的问题,可用于该病原的生物学研究及药物的开发与评价^[29-30]。此外,调查发现,IFN- γ ^{-/-} 小鼠模型在弓形虫(*Toxoplasma gondii*)^[31-32]、卡氏肺孢子虫(*Pneumocystis carinii*)^[33]、多房棘球绦虫(*Echinococcus multilocularis*)^[34]等寄生虫机制研究中也多次使用。

综上所述,针对重症免疫缺陷小鼠 IFN- γ ^{-/-} 小鼠,通过提高繁育小鼠的营养、规范配种时间和改善繁育环境等措施,可实现通过纯合子配种高效稳定地纯合子后代,这为后续使用实验动物模型开展研究奠定了基础,同时也为其他免疫缺陷小鼠的繁育提供了参考。

参 考 文 献(References)

- [1] SCHRODER K, HERTZOG P J, RAVASI T, et al. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions [J]. J Leukoc Biol, 2004, 75(2): 163-189.
- [2] DALTON D K, PITTS-MEEK S, KESHAV S, et al. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes [J]. Science, 1993, 259(5102): 1739-1742.
- [3] RANA V S, KITSOU C, DUTTA S, et al. Dome1-JAK-STAT signaling between parasite and host integrates vector immunity and development [J]. Science, 2023, 379(6628): eabl3837.
- [4] XU R, BEATTY W L, GREIGERT V, et al. Multiple pathways for glucose phosphate transport and utilization support growth of *Cryptosporidium parvum* [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 380.
- [5] 董辉, 苏瑞景, 杨卫华, 等. BALB/c 和 IFN- γ ^{-/-} 小鼠感染虎源弓形虫急性期组织损伤和抗原分布 [J]. 中国兽医学报, 2020, 40(6): 1153-1157.
DONG H, SU R J, YANG W H, et al. Tissue lesions and antigen distribution of BALB/c mice and IFN- γ ^{-/-} mice infected with *Toxoplasma gondii* isolated from tigers [J]. Chin J Vet Sci, 2020, 40(6): 1153-1157.
- [6] SCOTT DEVERA T, JOSHI S K, AYE L M, et al. Regulation of Anthrax toxin-specific antibody titers by natural killer T cell-derived IL-4 and IFN γ [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23817.
- [7] SUN J, ZHUANG Z, ZHENG J, et al. Generation of a broadly useful model for COVID-19 pathogenesis, vaccination, and treatment [J]. Cell, 2020, 182(3): 734-743. e5.
- [8] 黎峰铭, 唐雪梅. 全身型幼年特发性关节炎与巨噬细胞活化综合征的动物模型研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(9): 1225-1233.
LI F M, TANG X M. Progress on animal models of systemic juvenile idiopathic arthritis and macrophage activation syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(9): 1225-1233.
- [9] GUO K, YOMBO D J K, WANG Z, et al. The chemokine receptor CXCR3 promotes CD8⁺ T cell-dependent lung pathology during influenza pathogenesis [J]. Sci Adv, 2024, 10(1): eadj1120.
- [10] VICTÓRIO S C S, CARTAROZZI L P, HELL R C R, et al. Decreased MHC I expression in IFN γ mutant mice alters synaptic elimination in the spinal cord after peripheral injury [J]. J Neuroinflammation, 2012, 9: 88.
- [11] FERRARI D P, BORTOLANZA M, DEL BEL E A. Interferon- γ involvement in the neuroinflammation associated with Parkinson's disease and L-DOPA-induced dyskinesia

- [J]. Neurotox Res, 2021, 39(3): 705-719.
- [12] 苏瑞景, 董辉, 朱瑶, 等. IFN- γ 基因敲除小鼠的繁育及其对 TgCatChn4 弓形虫的感染研究 [J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(3): 250-253.
SU R J, DONG H, ZHU Y, et al. Reproduction of IFN- γ knockout mice and infection of TgCatChn4 strain of *Toxoplasma gondii* [J]. Chin J Zoonoses, 2019, 35(3): 250-253.
- [13] 彭旭, 尹海林. 基因工程小鼠繁育策略 [J]. 实验科学与技术, 2021, 19(5): 31-37.
PENG X, YIN H L. Breeding strategies for genetically modified mice [J]. Exp Sci Technol, 2021, 19(5): 31-37.
- [14] 田枫, 任波, 张云凤, 等. 基因修饰小鼠饲养管理及使用过程中问题探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(7): 72-74.
TIAN F, REN B, ZHANG Y F, et al. Discussion on the management and usage of genetically modified mice [J]. Chin J Comp Med, 2014, 24(7): 72-74.
- [15] 曾昭智, 张锦红, 揭光敏, 等. 葵花籽对昆明小鼠生长繁殖性能的影响 [J]. 贵州农业科学, 2013, 41(6): 138-139.
ZENG Z Z, ZHANG J H, JIE G M, et al. Effects of sunflower seed on growth and reproduction performances of Kunming mice [J]. Guizhou Agric Sci, 2013, 41(6): 138-139.
- [16] 李斯特, 唐玉玲, 崔晶, 等. 小鼠生物净化中体外受精试剂对其受精率和产仔率的影响 [J]. 实验动物科学, 2024, 41(4): 56-60.
LI S T, TANG Y L, CUI J, et al. Effect of *in vitro* fertilization reagent on fertilization rate and birth rate of mice in biological purification [J]. Lab Anim Sci, 2024, 41(4): 56-60.
- [17] 张静, 刘苗苗, 唐倩倩, 等. 实验动物质量保障体系和服务体系建设 [J]. 实验动物科学, 2023, 40(4): 62-68.
ZHANG J, LIU M M, TANG Q Q, et al. Construction of laboratory animal quality assurance and service system [J]. Lab Anim Sci, 2023, 40(4): 62-68.
- [18] 吴晗. 体外受精子代小鼠 T 淋巴细胞亚群失衡及表观遗传机制初探 [D]. 济南: 山东大学; 2023.
WU H. Preliminary study on the imbalance of T lymphocyte subsets and epigenetic mechanism *in vitro* sperm generation mice [D]. Jinan: Shandong University; 2023.
- [19] WEICHBROD R H, THOMPSON G A, NORTON J N. Management of animal care and use programs in research, education, and testing [M]. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2018.
- [20] PELLIZZON M A, RICCI M R. Effects of rodent diet choice and fiber type on data interpretation of gut microbiome and metabolic disease research [J]. Curr Protoc Toxicol, 2018, 77(1): e55.
- [21] 董巧燕, 张文盛, 尚艳姣, 等. 不同厂家实验动物饲料质量调查分析 [J]. 实验动物科学, 2024, 41(4): 68-74.
DONG Q Y, ZHANG W S, SHANG Y J, et al. Investigation and analysis of experimental animal feeds quality of different manufacturers [J]. Lab Anim Sci, 2024, 41(4): 68-74.
- [22] 韩帅, 朱晓伟, 包思成, 等. 实验动物饲料质量检测体系建设初探 [J]. 中国饲料, 2019, 9: 10-14.
HAN S, ZHU X W, BAO S C, et al. Study on the quality testing system of experiment animal feed [J]. Chin Feed, 2019, 9: 10-14.
- [23] 傅军. 两种基因敲除小鼠的生长与繁殖性能测定 [J]. 浙江畜牧兽医, 2019, 44(2): 2-4.
FU J. The performance test on growth and reproduction traits for two kinds of gene knockout mice [J]. Zhejiang J Anim Sci Vet Med, 2019, 44(2): 2-4.
- [24] 高艳华, 王显钢, 贾秀月, 等. 母性行为的激素机制 [J]. 中国行为医学科学, 2005, 14(11): 1051-1052.
GAO Y H, WANG X G, JIA X Y, et al. Hormonal mechanism of maternal behavior [J]. Chin J Behav Med Sci, 2005, 14(11): 1051-1052.
- [25] 曾敏娟, 鲍波, 李晓玲, 等. KM 小鼠吃仔原因及其预防措施 [J]. 黑龙江动物繁殖, 2016, 24(1): 32-35.
ZENG M J, BAO B, LI X L, et al. Causes and preventive measures of KM mice eating young [J]. Heilongjiang J Anim Reprod, 2016, 24(1): 32-35.
- [26] 张弓长, 邓一平, 董碧蓉. 基因工程小鼠饲养繁育及鉴定策略 [J]. 现代临床医学, 2023, 49(4): 295-298.
ZHANG G C, DENG Y P, DONG B R. Breeding and identification strategy of genetically engineered mice [J]. J Mod Clin Med, 2023, 49(4): 295-298.
- [27] 王丽, 王海涛, 李树伟. C57BL/6J 近交系脱毛小鼠与正常小鼠毛囊形态学观察及 AP-1 表达的差异 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(21): 16-18, 288.
WANG L, WANG H T, LI S W. Morphological observation of hair follicle and difference of AP-1 expression in C57BL/6J hair removal and normal mouse [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2017(21): 16-18, 288.
- [28] 黄月玲, 戴丽军, 谭小军, 等. 近交系 C57BL/6J 小鼠的脱毛特征 [J]. 解剖学研究, 2012, 34(4): 267-271.
HUANG Y L, DAI L J, TAN X J, et al. The features of hair loss in the inbred strain of C57BL/6J [J]. Anat Res, 2012, 34(4): 267-271.
- [29] HUANG J, CHEN M, HE Y, et al. *Cryptosporidium equi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): biological and genetic characterisations [J]. Int J Parasitol, 2023, 53(10): 545-554.
- [30] JIA R, HUANG W, HUANG N, et al. High infectivity and

- unique genomic sequence characteristics of *Cryptosporidium parvum* in China [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2022, 16 (8): e0010714.
- [31] 苏瑞景. IFN- γ 和肠道菌群在弓形虫病中的作用研究 [D]. 郑州: 河南农业大学; 2020.
SU R J. The role of IFN- γ and gut commensal bacteria in toxoplasmosis [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University; 2020.
- [32] DUBEY J P, FERREIRA L R, MARTINS J, et al. Oral oocyst-induced mouse model of toxoplasmosis: effect of infection with *Toxoplasma gondii* strains of different genotypes, dose, and mouse strains (transgenic, out-bred, in-bred) on pathogenesis and mortality [J]. *Parasitology*, 2012, 139(1): 1-13.
- [33] YANG Y, YING Y, VERMA S K, et al. Isolation and genetic characterization of viable *Toxoplasma gondii* from tissues and feces of cats from the central region of China [J]. *Vet Parasitol*, 2015, 211(3/4): 283-288.
- [34] 章宁. γ -干扰素在泡球蚴感染小鼠中的作用研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学; 2020.
ZHANG N. Study on the effect of interferon- γ in mice with *Echinococcus multilocularis* infection [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University; 2020.

[收稿日期] 2024-10-16

用于生物钟研究的新型小动物运动活动记录装置

啮齿动物跑轮记录仪是研究昼夜节律的可靠方法。本研究展示了如何构建一个简单而智能的跑轮记录系统。跑轮安装在笼子的底座上,霍尔传感器则安装在笼子的盖子上。然后,RJ25 适配器将运行信号传输到主控板。最后,主控制板通过 USB 接口连接到计算机的 USB 端口。数据收集使用的是可在线访问的自创软件 Magturning。通过 Magturning,生成的数据被实时保存和导出。随后,通过收集小鼠在不同光照条件下的运动活动数据,对该装置进行了验证。总之,这个新装置可以记录啮齿动物的昼夜节律活动。我们的设备适用于与生物钟研究相关的跨学科调查。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Models and Experimental Medicine*, 2024, 7(1):71-76. doi: 10.1002/ame2.12381)。

