

ICS 65.020.30

CCS B 44

**DB 65**

**新疆维吾尔自治区地方标准**

DB65/T 4714—2023

**实验动物 先天性白内障小鼠  
全流程管理技术规范**

**Laboratory animal——Technical specification for whole process management of  
Rncat**

2024 - 02 - 23 发布

2024 - 04 - 10 实施

新疆维吾尔自治区市场监督管理局 发布



## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心提出。

本文件由新疆维吾尔自治区卫生健康委员会归口并组织实施。

本文件起草单位：新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心、天康生物制药有限公司、新疆维吾尔自治区标准化研究院。

本文件主要起草人：安冉、张燕、袁江玲、艾山江·哈德尔、陈欣如、雒涛、赵国玉、艾山·艾比布勒、史深、卡迪丽亚·赛都拉、艾尔肯·塔西铁木尔、蒋健、徐佳丽、张段段、李丽、胡小明、文红梅、石佳玮、曹剑。

本文件实施应用中的疑问，请咨询新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心。

对本文件的修改意见及建议，请反馈至新疆维吾尔自治区卫生健康委员会(乌鲁木齐市龙泉街191号)、新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心(乌鲁木齐市碱泉一街380号)、新疆维吾尔自治区市场监督管理局(乌鲁木齐市新华南路167号)。

新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心 联系电话：0991-2625962；传真：0991-2625962；邮编：830002

新疆维吾尔自治区卫生健康委员会 联系电话：0991-8561122；传真：0991-8561122；邮编：830001

新疆维吾尔自治区市场监督管理局 联系电话：0991-2818750；传真：0991-2311250；邮编：830004



# 实验动物 先天性白内障小鼠 全流程管理技术规范

## 1 范围

本文件规定了实验动物先天性白内障小鼠的基本条件、生产管理、组织病理学检查、遗传质量监测、废弃物处理及记录档案管理的要求。

本文件适用于实验动物先天性白内障小鼠的全流程管理及质量的控制。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 14922 实验动物 微生物、寄生虫学等级及监测

GB 14923 实验动物 遗传质量控制

GB 14924.3 实验动物 配合饲料营养成分

GB 14925 实验动物 环境及设施

GB/T 34791 实验动物 质量控制要求

GB/Z 34792 实验动物 引种技术规程

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**先天性白内障小鼠 Rncat**

经人工培育，对其携带微生物和寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，用于科学研究、教学、生产、检验以及其他科学实验的，先天存在出生后自发晶体混浊形成白内障的小鼠。

### 3.2

**核心群 core group**

保持先天性白内障小鼠种群自身的传代繁衍和为扩大繁殖提供种用动物，采用近亲交配方式进行繁殖。

### 3.3

**封闭群 closed colony**

以非近亲交配方式进行繁殖生产的先天性白内障小鼠种群，在不从其外部引入新个体的条件下，至少连续繁殖5代以上。

### 3.4

**屏障环境 barrier environment**

符合先天性白内障小鼠居住的要求，严格控制人员、物品和空气的进出，适用于无特定病原体级实验动物的环境。

### 3.5

#### 全流程管理技术 whole process management technology

实验动物先天性白内障小鼠的生产管理、组织病理学检查以及遗传质量监测的内容与操作方法。

## 4 基本条件

- 4.1 人员、设施、繁殖与生产、使用、福利伦理等应按 GB/T 34791 要求执行。
- 4.2 饲料的营养成分及卫生指标应符合 GB 14924 的要求，垫料和饮水应符合 GB 14925 的要求。
- 4.3 环境设施应符合 GB 14925 的要求。

## 5 生产管理

### 5.1 引种

- 5.1.1 引种基本流程宜按照 GB/Z 34792 规定执行。
- 5.1.2 应放入规定的隔离检疫室或隔离器中，隔离观察 2 d 后，无异常情况的转入动物实验室。如有异常的小鼠，应进行必要的微生物学质量检测。
- 5.1.3 核心群引种应按照 GB 14923 要求。

### 5.2 饲养管理

- 5.2.1 日常饲养应根据地区、季节、设施设备条件的不同制定切实可行的管理操作规程。
- 5.2.2 人员进入动物设施应按照进入该级别动物设施的操作规程进行。
- 5.2.3 工作时留意是否有疾病征兆或死亡小鼠，并及时通知兽医进行诊断。

### 5.3 核心群及血缘扩大群的保种

- 5.3.1 血缘扩大群可采用近亲交配、组间循环的繁殖方法。将种鼠按事先定的配种方案置于繁殖盒中，建立繁殖卡。
- 5.3.2 封闭群动物遗传质量监测按照 GB 14923 规定执行。
- 5.3.3 产仔数较少的核心群宜采用祖父子三世代五笼保种法，产仔数较多的核心群宜采用父子二世代五笼保种法。
- 5.3.4 血缘扩大群宜采用长期同居法或定期同居法交配繁殖。
  - a) 长期同居法：将 1 只雄鼠与 1 只雌鼠同居。在雌鼠分娩后几小时内可再行交配受孕；
  - b) 定期同居法：将 1 只雄鼠与 6 只雌鼠编为一繁殖单元。确保雄鼠笼内有 2 只~3 只雌鼠，同时将受孕雌鼠提出，置单笼分娩、哺乳、离乳，6 只雌鼠均受孕为一期。

### 5.4 生产群的繁殖管理

- 5.4.1 选择 2 月龄、健康、发育正常的小鼠为种鼠。
- 5.4.2 用于交配的种鼠，应编上个体号码进行管理；在交配卡上记录交配日期、个体号码、胎次数、产仔数、断奶数等繁育指标；胎次数一般控制在 5 胎~6 胎，超过胎次数或繁育性能不良的种鼠淘汰，补充新的种鼠。
- 5.4.3 哺育数一般为 5 只~8 只，产仔数多于哺育数时，可淘汰多余的，也可补充同品系产仔数少的。
- 5.4.4 观察母鼠和仔鼠各种状态，核实淘汰不妊鼠。
- 5.4.5 小鼠初生后 17 d~22 d 离乳，淘汰畸形、发育极差、尾卷曲或断尾的、无鼻毛以及腹泻等异常

的仔鼠。

5.4.6 一般从第2胎~4胎中选取生产群繁殖用种用动物，原则上从1窝中选取发育较好、体格健壮，先天性白内障特征明显的小鼠作为种用动物。选作种用的动物，记录组、编号、性别、只数和出生年月日。

5.5 微生物、寄生虫学质量控制

应按照GB 14922中规定执行，监测工作应由专业人员完成。

6 组织病理学检查

6.1 抽样要求

宜选择4周龄以上先天性白内障小鼠用于检查，随机抽样。

6.2 检查程序

对先天性白内障小鼠眼晶状体进行取样和检查，检查程序见图1。

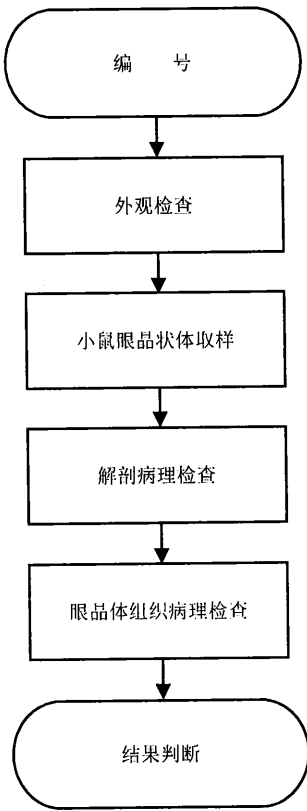


图1 检查程序

6.3 检查步骤

封闭群先天性白内障小鼠组织病理学检查按照以下步骤进行：

- a) 肉眼对小鼠眼晶状体进行外观检查；
- b) 使用裂隙灯对小鼠眼晶状体进行检查；

- c) 安乐死，实验小鼠常规麻醉后处死；
- d) 白内障小鼠眼球大体解剖及取材，摘取白内障小鼠眼球投入 Davidson 液中固定；
- e) 组织病理学检查；
- f) 组织标本取材；
- g) 病理组织制片，具体方法按附录 A 执行。常规石蜡切片，伊红-苏木精染色，必要时进行免疫组织化学鉴定；
- h) 阅片及分析，具体方法按附录 B 执行。由具有病理诊断经验的病理学专业人员进行。

## 6.4 结果判断

### 6.4.1 外观检查

结合裂隙灯，可直接判断有无晶状体浑浊。

### 6.4.2 组织病理学检查

检查结果分为四个等级，按照镜检晶状体无病变、病变达到全晶状体切面面积的1/5、3/5、整体病变分别判定为未见异常、轻微异常、中度异常和重度异常。

### 6.4.3 结论

最后结论应包含外观检查结果和组织病理学检查结果。

## 7 遗传质量监测

### 7.1 遗传质量标准

封闭群先天性白内障小鼠应符合以下要求：

- a) 具有明确的遗传背景资料，来源清楚，有完整的资料，包括种群名称、来源、遗传基因特点及主要生物学特性等，并能充分表明新培育的或引种的封闭群先天性白内障小鼠符合封闭群定义的规定；
- b) 用于保种及生产的繁殖记录卡应清楚完整，繁殖方法科学合理；
- c) 经遗传检测质量合格，遗传检测抽样方法及监测频次按照 GB 14923 要求执行。

### 7.2 遗传质量检测方法及实施

#### 7.2.1 检测方法

采用RT-PCR基因检测方法进行。具体方法按附录C执行。

#### 7.2.2 结果判断

按照附录C.3.1，判断是否符合先天性白内障小鼠遗传要求。

## 8 废弃物处理

开展实验所产生的污水、废弃物、小鼠尸体等应按照GB 14925的要求进行处理。

## 9 记录与档案管理

- 9.1 应按照国家相关规定,制定相应的实验动物档案管理制度。
- 9.2 生产、保种、检测及质量控制等记录应准确、清晰、完整。
- 9.3 各项资料定期进行整理归档,根据需要确定保存年限。

附 录 A  
(规范性)  
取材和标本制作

A.1 光镜标本制作

取正常小鼠和白内障小鼠各3只，常规麻醉后处死，行小鼠双眼球摘除术，乳酸林格氏液冲洗眼球，将眼球置于眼球固定液中固定一周。

A.2 光镜观察

在低倍镜和高倍镜下分别观察晶状体的前后囊膜和赤道部，同时观察浅层皮质和核心部纤维的排列状态，比较两组之间的形态学差异。

A.3 电镜标本制作和检查

取正常小鼠和白内障小鼠各4只，将小鼠常规麻醉后处死，行小鼠双眼球摘除术，乳酸林格氏液冲洗眼球，在解剖镜下从后部剪开巩膜，完整取出小鼠晶状体。透射电镜标本平均切成4块，扫描电镜2只为完整晶状体，另两只平均切成2块，立即放入2.5%戊二醛固定液。透射电镜、扫描电镜观察病变情况。

附 录 B  
(规范性)  
切片病变的定量观察

B.1 切片染色

常规HE染色，切片厚度应 $\leq 4\ \mu\text{m}$ 。

B.2 切片观察

光镜下首先区分是否有病变及病变范围，然后从脏器一端向另一端进行整体观察和描述。

B.3 定量观察

将制作好的切片用切片扫描仪进行全片扫描，电脑分析病灶占位比例。

B.4 定量积分

占比1/10的为小灶病变，积一分。依次类推全晶状体病变为满分10分。

附 录 C  
(规范性)  
先天性白内障小鼠遗传检测方法

C.1 样本核酸提取

C.1.1 在样本处理区进行。为防止RNA降解,所用试验用具及溶液应无RNA酶,操作过程中应佩戴一次性橡胶或乳胶手套。

C.1.2 采集白内障小鼠眼球组织,用RNA抽提试剂盒提取白内障小鼠眼球组织的总RNA。

C.2 RT-PCR

C.2.1 引物

上游引物: 5'-CCGCTCGTACCTAAGTCGCT-3'

下游引物: 5'-CCTCAGGGAGAACTCTATGGTC-3'

C.2.2 扩增体系

取出相应的RT-PCR试剂、引物探针等,在室温下融化后,2000 g离心5 s。按样品数量配制反应液,每个反应管包含: 10×RT-PCR缓冲液2 μL, 25 mmol/L氯化镁溶液2 μL, 2.5 mmol/L dNTPs溶液1.5 μL, 10 μmol/L上下游引物各1 μL, 10 μmol/L探针0.5 μL, 5 U/μL DNA聚合酶0.5 μL, 5 U/μL逆转录酶0.5 μL, 40 U/μL RNA酶抑制剂0.5 μL, DEPC水6.5 μL。充分混合均匀,向每个反应管中各分装16 μL,转移至样本处理区,最后加入总RNA 4 μL。

注: RT-PCR扩增可以采用等效的商品化RT-PCR试剂盒。

C.2.3 反应程序

RT-PCR反应程序为50℃,反转录30 min。94℃,4 min; 94℃,30 s; 60℃,30 s,30个循环;72℃延伸7 min。

C.3 扩增产物的检测与观察

C.3.1 扩增产物,以2%的琼脂糖检测扩增效率;凝胶成像系统记录检测结果;个体基因型的判断: CrygS的RT-PCR产物大小为483 bp。

C.3.2 运用凝胶成像系统扫描,并拍照,保存记录。