

中华人民共和国国家标准

GB/T 14927.2—2008
代替 GB/T 14927.2—2001

GB/T 14927.2—2008

实验动物 近交系小鼠、大鼠免疫标记检测法

Laboratory animal—
Immunological marker of inbred mice and rats

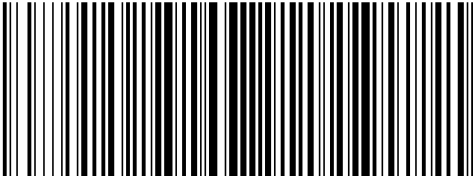
中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
实验动物
近交系小鼠、大鼠免疫标记检测法
GB/T 14927.2—2008

*
中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
网址 www.spc.net.cn
电话:68523946 68517548
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*
开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 12 千字
2009年2月第一版 2009年2月第一次印刷

*
书号: 155066·1-35774 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 14927.2—2008

2008-12-10 发布

2009-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

附 录 A
(资料性附录)
近交系小鼠 H-2 单倍型

常用近交系小鼠 H-2 单倍型见表 A. 1。

表 A. 1 常用近交系小鼠 H-2 单倍型

品系	H-2D	H-2K	H-2 单倍型
129	b	b	b
615	k	k	k
C3H	k	k	k
C57BL/6	b	b	b
C57BL/10	b	b	b
FVB	b	b	b
TA1	b	b	b
TA2	b	b	b
T739	b	b	b
BALB/c	d	d	d
DBA/2	d	d	d
Scid	d	d	d

前 言

GB/T 14927 共分 2 个部分：

——第 1 部分为《实验动物 近交系小鼠、大鼠生化标记检测法》；

——第 2 部分为《实验动物 近交系小鼠、大鼠免疫标记检测法》。

本部分为 GB/T 14927 的第 2 部分。

本部分自实施之日起，代替 GB/T 14927. 2—2001《实验动物 近交系小鼠、大鼠皮肤移植检测法》。

本部分与 GB/T 14927. 2—2001 相比主要技术差异如下：

- a) 修订实验动物近交系小鼠、大鼠皮肤移植法部分内容；
- b) 增加小鼠 H-2 单倍型微量细胞毒检测法；
- c) 本部分名称修改为“实验动物 近交系小鼠、大鼠免疫标记检测法”。

本部分附录 A 为资料性附录。

本部分由全国实验动物标准化技术委员会提出并归口。

本部分由全国实验动物标准化技术委员会负责起草。

本部分主要起草人：邢瑞昌、刘双环、马丽颖、岳秉飞、鲍世民。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 14927. 2—1994, GB/T 14927. 2—2001。

3.2.4 PBS pH7.2

Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	1.27 g
KH ₂ PO ₄	0.21 g
NaCl	3.40 g
蒸馏水	至 500 mL

3.2.5 Hank’s 液

NaCl	8.00 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.41 g
KCl	0.40 g
KH ₂ PO ₄	0.10 g
NaHCO ₃	1.27 g
葡萄糖	2.00 g
蒸馏水	至 100 mL

3.2.6 伊红染色液(6%)

曙红 B(水溶性) Eosin B	0.6 g
蒸馏水	至 10 mL

3.2.7 甲醛溶液(10%)

甲醛	1 mL
蒸馏水	至 10 mL

3.2.8 离心机:500 r/min~4 000 r/min 离心机。

3.2.9 倒置显微镜:低倍。

3.2.10 37 ℃恒温水浴箱。

3.3 操作

3.3.1 脾细胞的制备

3.3.1.1 取待检小鼠脾剥去脂肪等附着物。

3.3.1.2 置于盛有 1 mL 10%小牛血清(9 mL PBS,1 mL 小牛血清)的平皿中,用小镊子撕碎。

3.3.1.3 将此混合物转移至离心管中,再用 1 mL 10%小牛血清清洗平皿转移至同一离心管中,静置 15 min。

3.3.1.4 吸上清于另一离心管中,弃去沉淀。

3.3.1.5 离心上清液,3 000 r/min 离心 5 min。

3.3.1.6 弃掉上清液,保留沉淀。在沉淀中加入 4.5 mL 蒸馏水用吸管充分吸打搅匀,从加入蒸馏水时严格计时,40 s 后加入 0.5 mL Hank’s 液,用吸管充分吸打搅匀,静置 10 min。

3.3.1.7 吸上清于另一离心管中,弃掉下部沉淀团块,离心上清液,3 000 r/min 离心 5 min。

3.3.1.8 弃掉上清液,保留沉淀。在沉淀中加入 0.5 mL 20%小牛血清(8 mL PBS,2 mL 小牛血清)。

3.3.1.9 细胞记数,使细胞终浓度为 1×10⁶/mL~5×10⁶/mL。

3.3.2 细胞反应程序

3.3.2.1 采用 2.0 mL 离心管,每一动物品系均设立空白对照和补体对照。

3.3.2.2 每管中加入 20 μL 充分摇匀的细胞悬液,然后加入 20 μL 抗体(对照管中只加 20%小牛血清)充分摇匀,37 ℃水浴中保温 15 min。

3.3.2.3 每管加 30 μL 补体(用 20%小牛血清 2 倍稀释),空白对照只加 20%小牛血清,37 ℃水浴中反应 30 min~40 min。

3.3.2.4 每管中加入 20 μL Eosin(伊红)染色液(6%Eosin 用 20%小牛血清等倍稀释)37 ℃保温 10 min。

实验动物

近交系小鼠、大鼠免疫标记检测法

1 范围

GB/T 14927 的本部分规定了近交系小鼠、大鼠皮肤移植术法和近交系小鼠 H-2 单倍型(Haplo-type)检测方法。

本部分近交系小鼠、大鼠皮肤移植术法适用于近交系小鼠和大鼠在培育过程中遗传纯度的检查以及近交系小鼠和大鼠在繁殖饲养过程中的遗传监测。近交系小鼠 H-2 单倍型(Haplotype)检测方法适用于近交系小鼠培育和繁殖饲养过程中的遗传监测,主要检测 H-2 复合体 D 区和 K 区的抗原分型。

2 近交系小鼠和大鼠皮肤移植术法

2.1 技术原理

移植物在同一近交系中可以被互相接受,即同系移植(isograft)是成功的。

移植物在不同近交系中互相排斥,亦即同种移植(allograft)是不成功的。

F1 代动物可以接受任何一个双亲的组织移植物,双亲则不能接受 F1 代的移植物。

F1 代动物可以接受 F2 代以后各代动物的移植物。

亲本品系可以接受某些 F2 代以后各代动物的移植物,但是绝大部分被排斥。

本部分采用背部皮肤移植法和尾部皮肤移植法。两种方法原理相同,并具有同等标准效力。

2.2 背部皮肤移植法

2.2.1 设备和材料

2.2.1.1 固定板(18 cm×12 cm)。

2.2.1.2 戊巴比妥钠(医用)。

2.2.1.3 医用橡皮膏。

2.2.1.4 医用凡士林。

2.2.1.5 粉剂青霉素 G 钠(80 万 U,人或兽用)。

2.2.1.6 3%碘酒棉球。

2.2.1.7 75%酒精棉球。

2.2.1.8 眼科剪刀。

2.2.1.9 眼科镊子。

2.2.1.10 一次性注射器(1 mL)。

2.2.1.11 纱布(剪成 40 mm 长,25 mm 宽若干条;厚 2 层~3 层若干块,其上涂医用凡士林及粉剂青霉素 G 钠)。

2.2.1.12 脱脂棉做成的棉球。

2.2.1.13 将手术器材置于高压锅内 121 ℃、40 min 高压灭菌。

2.2.2 操作步骤

2.2.2.1 随机取同性别 4 周龄~8 周龄的动物 10 只,动物可来自基础群或血缘扩大群。

2.2.2.2 每只动物分别编号并称取体重,详细记录品系名称、性别、出生年月日、谱系及其他特征。

2.2.2.3 用无菌生理盐水配制 0.7%戊巴比妥钠溶液。

2.2.2.4 采用腹腔注射 0.7%戊巴比妥钠溶液麻醉动物。小鼠每 10 g 体重注射 0.1 mL,大鼠每 20 g