

遗传背景年度监测报告

(Genetic Background Detection Report)

报告编号

TR-MT-20210623-001

(Report No.)

监测品系

B-NDG 小鼠

(Genotyping Strain)

鉴定部门

百奥赛图江苏基因生物技术有限公司

(Genotyping Department)

海门检测中心

报告日期

2021.06.23

(Report Date)

遗传背景年度监测报告

1 实验目的

百奥赛图江苏基因生物技术有限公司 B-NDG 小鼠的年度遗传背景监测。

2 实验与方法

2.1 实验方法

SSLP 检测法

2.2 引物选择

综合文献 1 和文献 2，每个染色体选取 2-4 个 marker，共计 60 个位点，平均遗传距离在 19 cM。参考 MGI 数据，此 60 个位点虽然片段有差异，与 C57BL/6 相比差异趋势相同，相信可靠。

基因
内部

2.3 实验动物信息

以 C57BL/6N 和 NOD-scid 小鼠为对照, 验证 B-NDG 小鼠的 NOD 背景, 实验动物提供单位、只数及周龄等具体信息见表 1。

表 1: 实验动物信息

品系	只数		提供单位	周龄 (W)
	♂	♀		
C57BL/6N	0	1	维通利华	7
NOD-scid	0	1	维通利华	7
B-NDG	3	3	百奥赛图江苏基因生物技术有限公司	7

2.4 鼠尾基因组 DNA 提取及 PCR 扩增

鼠尾基因组 DNA 提取方法参考附录 1。

PCR 反应体系及程序见表 2 和表 3。

2.5 毛细管电泳结果分析

虽然文献 2 采用 4% 的凝胶电泳可以判断结果, 但是根据我们的实验经验, 凝胶电泳很难清晰区分开 200bp 左右条带, 此次实验采用参考文献 1 的毛细管电泳方法进行检测。

表 2: KOD-FX DNA 聚合酶的 PCR 反应体系 (总体积: 20 μ L)

Reaction component	Volume (μ L)	Final concentration
ddH ₂ O	2.4	—
2 \times FX buffer	10	1 \times
2 mM dNTPs	4	400 μ M each
10 μ M Primer-F (FAM)	0.6	0.3 μ M
10 μ M Primer-R	0.6	0.3 μ M
1.0 U/ μ L FX DNA Polymerase	0.4	0.02 U/ μ L
100-200 ng/ μ L Template DNA	2	10-20g/ μ L

表 3: KOD-FX DNA 聚合酶 PCR 反应程序

Step	Temp.	Time	Cycles
1	94°C	2 min	1
2	98°C	10 sec	
3	62°C	30 sec	30
4	68°C	30 sec	
5	68°C	10 min	1
6	4°C	hold	1

3 结果分析与结论

根据毛细管电泳实验反馈的结果进行汇总分析发现，B-NDG 小鼠与 NOD-scid 小鼠 SSLP 片段大小一致，而与 C57BL/6N 小鼠有明显差异（平均差值 13.2bp）（表 5），并且整体与文献/MGI 的片段差异基本相同。

我们得出结论，B-NDG 小鼠与维通利华来源的 NOD-scid 小鼠背景相同，与百奥赛图来源的 C57BL/6N 小鼠有显著差异。

Table 4. SSLP PCR product sizes in the B-NDG,NOD-scid and C57BL/6N strains

Marker	Position (cM)	B-NDG	NOD-scid	C57BL/6N	B-NDG/NOD-scid ¹	B-NDG/C57BL/6N ²
D1Mit303	34.8	113	113	123	0	10
D1Mit132	43.1	160	160	141	0	19
D1Mit150	81.08	120	120	131	0	11
D2Mit42	54.85	125	125	140	0	15
D2Mit311	83.1	114	114	127	0	13
D2Mit346	91.8	100	100	94	0	6
D3Mit189	43.89	156	156	132	0	24
D3Mit85	72.9	216	216	210	0	6
D3Mit89	86.1	211	211	216	0	5
D4Mit308	57.66	117	117	81	0	36
D4Mit203	63.26	111	111	105	0	6
D4Mit256	82.7	129	129	133	0	4
D5Mit146	1	123	123	119	0	4
D5Mit158	55.99	323	323	307	0	16
D5Mit161	65.34	156	156	118	0	38
D6Mit296	2.25	109	109	99	0	10
D6Mit100	41.03	96	96	83	0	13
D6Mit304	75	103	103	112	0	9
D7Mit267	11	180	180	195	0	15
D7Mit220	55.69	115	115	128	0	13
D7Mit189	72.4	115	115	132	0	17
D8Mit155	1	158	158	162	0	4
D8Mit80	43.06	120	120	105	0	15
D8Mit88	58	125	125	112	0	13
D9Mit83	6	127	127	132	0	5
D9Mit97	29	157	157	147	0	10
D9Mit52	72	171	171	169	0	2
D10Mit2	16	134	134	128	0	6
D10Mit230	45.28	138	138	110	0	28
D10Mit266	62	80	80	88	0	8
D11mit151	15.29	151	151	134	0	17
D11mit298	42.76	217	217	193	0	24
D11Mit48	77	124	124	130	0	6
D11mit303	82.9	104	104	106	0	2
D12Mit12	8.49	167	167	139	0	28
D12mit2	18.94	146	146	133	0	13
D12Mit133	56	98	98	112	0	14
D13Mit51	11.94	142	142	139	0	3

D13mit191	45.05	120	120	114	0	6
D13mit78	67.21	203	203	225	0	22
D14mit126	11.94	127	127	134	0	7
D14Mit225	42.5	96	96	113	0	17
D14mit95	57.2	163	163	120	0	43
D15mit154	16.82	145	145	152	0	7
D15mit92	32.19	139	139	141	0	2
D15Mit42	59.2	180	180	184	0	4
D16Mit129	3.4	165	165	178	0	13
D16Mit140	40.3	157	157	141	0	16
D16Mit106	71.5	134	134	146	0	12
D17mit164	2.11	91	91	126	0	35
D17Mit68	23.55	168	168	129	0	39
D17Mit93	44.5	142	142	155	0	13
D18Mit12	17	131	131	119	0	12
D18Mit91	29	137	137	140	0	3
D18Mit187	47	108	108	112	0	4
D19mit45	16.14	134	134	138	0	4
D19mit1	50.32	144	143	122	1	22
DXMit55	1.4	128	128	137	0	9
DXMit48	25.51	99	99	105	0	6
DXMit179	53.17	114	114	122	0	8
average	42.96	139.6	139.6	137.0	0.02	13.2

1.代表 B-NDG 小鼠与 NOD-scid 小鼠的 SSLP 片段大小的差值

2.代表 B-NDG 小鼠与 C57BL/6N 小鼠的 SSLP 片段大小的差值

4 参考文献

1. Suemizu H, Yagihashi C, Mizushima T, et al. Establishing EGFP Congenic Mice in a NOD/Shi-scid/L2Rg^{null} (NOG) Genetic Background Using a Marker-Assisted Selection Protocol (MASP)[J]. *Experimental Animals*, 2008, 57(5): 471-477.
2. Gurumurthy C B, Joshi P S, Kurz S G, et al. Validation of Simple Sequence Length Polymorphism Regions of Commonly Used Mouse Strains for Marker Assisted Speed Congenics Screening[J]. *Comparative and Functional Genomics*, 2015: 735845-735845.

5 附录：鼠尾基因组 DNA 的提取

5.1 鼠尾裂解液的配制

表 5：鼠尾裂解液的浓度

试剂名称	储存液浓度
Tris-HCl (pH8.0)	1 M (10×)
EDTA-2Na (pH8.0)	0.5 M (100×)
NaCl	3 M (15×)
SDS	10% (50×)
Proteinase K	10 mg/mL (100×)

5.2 裂解液的配制举例（总体积：10 mL）

表 6：鼠尾裂解液配制体系（总体积：10 mL）

储存液	体积
Tris-HCl (pH8.0)	1 mL
EDTA -2Na (pH8.0)	100 μ L
NaCl	667 μ L
SDS	200 μ L
Proteinase K	100 μ L
Distilled water	7933 μ L

5.3 鼠尾基因组 DNA 的提取步骤

5.3.1 在仔鼠出生 7 天左右就可以开始剪尾，剪下来的尾巴长度为 0.5 cm，立即放入置于冰袋上的 1.5 mL 离心管中。

5.3.2 剪尾后建议立即开始鼠尾的裂解并提取基因组 DNA。如果当天不能裂解鼠尾，需要将剪下来的鼠尾置于-80℃冰箱。如果需要运输，运输过程中也要保持低温状态，建议用干冰或冰块。

5.3.3 每管加入 500 μ L 配制好的裂解液（含 10mg/mL 的蛋白酶 K 5 μ L）。



- 5.3.4 放入 55℃ 的杂交炉中旋转，孵育过夜。
- 5.3.5 从杂交炉中取出离心管，在室温静置 10-15min，使样品温度降至室温，将离心管颠倒混匀。
- 5.3.6 13000rpm，室温离心 15min。
- 5.3.7 吸取 400μL 上清至另一个新的离心管中。
- 5.3.8 加入等体积的异丙醇，立即温和地上下翻转，充分混匀，此时会出现白色絮状沉淀，室温下 12000rpm 离心 10min，弃上清。
- 5.3.9 往离心管中加入 700μL 冰冷的 75%乙醇漂洗，温和地上下翻转混匀。
- 5.3.10 12000rpm，室温离心 5min，弃上清，瞬离后，吸除残留液体。
- 5.3.11 在超净台中风干约 3-5 min。
- 5.3.12 用 50-100μL Gibco 纯水(根据 DNA 量确定用水量)重悬，55℃ 溶解 2h，溶解过程中需颠倒混匀，保证 DNA 溶解完全。
- 5.3.13 检测 DNA 的浓度，取 100-200 ng 的 DNA 用做 PCR 的模板。

监测人: 孙振伟

日期: 2021.06.23

审核人: 丁佳慧

日期: 2021.06.23

审批人: 李书元

日期: 2021.06.23

内部检测