

# 近交系 BALB / c 小鼠及先天遗传性白内障 突变型 BALB / cBk-Cat 小鼠的 DNA 指纹研究

薄侃 蓝翎<sup>①</sup> 蔡有余<sup>②</sup> 张小为<sup>③</sup> 肖广林<sup>④</sup>

(南京军区第八十一医院 南京 210002)

**摘要** 采用人工合成的寡核苷酸探针(GATA)<sub>4</sub>分别与近交系小鼠 BALB / c 和经 10 年 30 代培育而成的自发突变型近交系先天遗传性白内障 BALB / cBk-Cat 小鼠进行 DNA 分子杂交, DNA 指纹显示: (1) BALB / c 小鼠个体之间以及 BALB / cBk-Cat 小鼠个体之间没有差异; (2) BALB / c 小鼠与 BALB / cBk-Cat 小鼠的 DNA 指纹在 23—6kb 之间的区域有差异。

**关键词** DNA 指纹, 近交系, 自发突变型, 先天遗传性白内障, 合成寡核苷酸探针

## DNA Fingerprints Research of Inbred Mouse BALB / c and Hereditary Cataract Mutant BALB / cBk-Cat

Bo Kan *et al*

(Nanjing 81 Hospital of PLA, Nanjing 210002)

白内障是致盲的主要原因之一。先天遗传性白内障的发病机理目前尚未完全明了。以人本身作为实验对象来研究该疾病以推动眼科医药学的发展是困难的, 依靠临床所积累的经验, 不仅在时间和空间上存在着局限性, 而且许多实验在道义上和方法上也受到限制, 因此, 在阐明人类疾病机制及其防治的过程中, 模型动物起着重要作用, 受到医学界的重视和青睐。作者按国际标准定向培育并建立了自发突变型近交系先天遗传性白内障 BALB / cBk-Cat 小鼠模型。为了从分子水平研究其遗传特征, 采用 DNA 指纹技术对 BALB / c 小鼠和 BALB / cBk-Cat 小鼠进行了比较研究, 为进一步深入探讨先天遗传性白内障的发病机理打下了良好的基础。

### 1 材 料 和 方 法

内切酶 *Hin* II 及 T<sub>4</sub> 多核苷酸激酶由 Pharmacia-LKB 公司制备。寡核苷酸 (GATA)<sub>4</sub> 探针用 DNA 合成仪合成, 中国医学科学院实验动物研究所提供。琼脂糖由上海东海制药厂生产。同位素  $\gamma$ -P<sup>32</sup>-ATP 购自北京福瑞生物工程公司。X 光胶片由天津感光胶片厂生产。自发突变型近交系先天遗传性白内障小鼠 BALB / cBk-Cat 由作者本人提供。BALB / c 小鼠由中国医学科学院实验动物研究所提供。

全血 DNA 提取按常规的方法进行<sup>(1)</sup>。DNA 限制性酶切<sup>(2)</sup>, 每份 DNA 各取 2 至 5 微克用 40 单位 *Hin* II 消化, 37℃ 保温 3 小时。电泳时琼脂糖凝胶浓度为 0.8%, 胶长 20cm, 电压 30V, 缓冲液为 TAE (40mmol / L

①金河集团北京赛百盛生物工程公司, 100016.

②中国医学科学院实验动物研究所, 北京 100005.

③北京医科大学攻读博士学位研究生, 北京 100083.

④中国医学科学院实验动物研究所, 北京 100005.

Tris-HCl, 20mmol/L NaAc, 1mmol/L EDTA, pH8.0), 以 DNA-*Hind*III 为分子量标准, 电泳至小于 4kb 的片段走出凝胶为止。在 80℃ 左右吹风烘烤数小时, 彻底干燥后取出, 变性、中和各 45 分钟。用寡核苷酸 (GATA)<sub>4</sub>, 50μCi γ-P<sup>32</sup>-ATP, 在 T<sub>4</sub> 多核苷酸激酶催化下, 37℃ 反应 45 分钟。靶 DNA 酶切片段在 20 SSPE pH7.4, 5ml, 50×Denharat, 10%SDS 0.2ml 和放射性标记的寡核苷酸探针的杂交液中, 35℃ 杂交 3 小时, 用 6×SSC 漂洗, 室温洗 3 次, 每次 15 分钟, 35℃ 1.5 分钟, -20℃ 放射自显影 2—5 天。

## 2 结果与讨论

BALB/cBk-Cat 小鼠是 1984 年作者在 BALB/c 小鼠群中发现的突变白内障小鼠。用寡核苷酸(GATA)<sub>4</sub> 探针所做 BALB/cBk-Cat 和 BALB/c 小鼠的 DNA 指纹图显示, 两个品系的 DNA 指纹不完全一致, 在 23—6kb 之间有差异(图 1)。(GATA)<sub>4</sub> 探针和 BALB/c 及 BALB/cBk-Cat 小鼠两种品系内的各个体杂交, DNA 指纹完全一致。

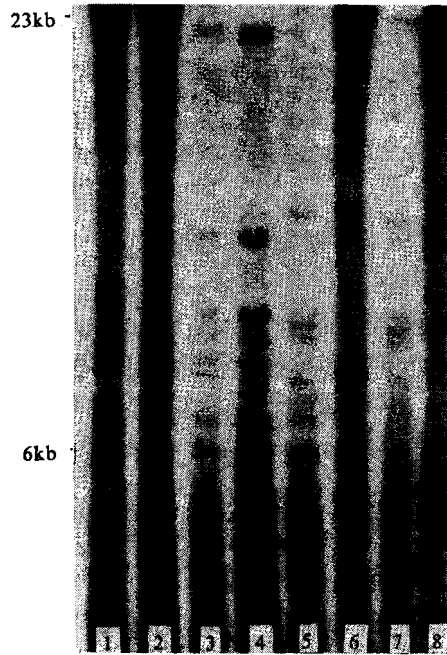


图 1 BALB/cBk-Cat 小鼠和 BALB/c 小鼠的 DNA 指纹图

1—2. BALB/c 小鼠(♂); 3—4. BALB/c 小鼠(♀); 5. BALB/cBk-Cat 小鼠(♀); 6. 8. BALB/cBk-Cat 小鼠(♂)。

(GATA)<sub>4</sub> 探针用于 BALB/c 及 BALB/cBk-Cat 小鼠遗传监测, 能区别雌雄。BALB/cBk-Cat 已近交繁殖 30 代, 每代均 100% 出现白内障, 表现为常染色体显性遗传<sup>(3)</sup>。BALB/cBk-Cat 小鼠每个个体的 DNA 指纹完全一致, 说明该模型小鼠的遗传纯度可靠, 符合近交系纯合子标准, 经国家鉴定, 已建立了自发突变型近交系先天遗传性白内障 BALB/cBk-Cat 动物模型。

## 参 考 文 献

- (1) 蔡良婉, 1987. 核酸研究技术, 北京: 科学出版社, 1—11.
- (2) 蓝翎等, 1993. 遗传学报, 20(1): 1—6.
- (3) 薄侃等, 1992. 上海实验动物科学, 12(2): 71—72.

本文于 1994 年 1 月 3 日收到。