

BKS.Cg-Dock7^m +/+ Lepr^{db}

品系编号：GAP2017

品系简称：**BKS-DB**

品系特点：

纯合小鼠在三到四周龄时产生可以辨认的肥胖表型。出生后 10 至 14 日，血浆胰岛素开始升高；4 到 8 周血糖开始升高。纯合子小鼠表现为贪食、口渴、多尿，并且遗传背景显著地影响着发病过程。在 BKS 背景下，能够观察到很多特征，比如血糖不受控制的增高，胰岛产生胰岛素的 beta 细胞缺失，且寿命只有 10 个月。外源胰岛素无法控制血糖浓度且糖异生作用酶活性升高。在 BKS-DB 纯合子中可以观察到外周神经病变和心肌病。在糖尿病小鼠中异常表达的类固醇磺基转移酶与 Lepr^{db} 突变相互作用，该蛋白在肥胖诱导糖尿病上起修饰调节作用。由于纯合子是不育的，因此 misty 被整合到品系中以维持 db 突变。db 和 misty 的突变可以帮助我们辨别纯合、杂合、野生型小鼠。隐性的 misty 基因突变会导致毛色变浅，在特定品系背景时，可见尾尖呈白色，并伴随腹部斑点。从 m/m 小鼠获得的黑素细胞呈树状，表明培养中的细胞增殖有缺陷且含有过多的黑色素含量。与野生型对照相比，原代培养的成黑素细胞在 m/m 更少。在 2 到 5 周间，m/m 小鼠比对照鼠体形小。35 天时，他们体长较短，体重平均值比对照组少 15%，且腹股沟的脂肪也比对照少。Misty 纯合子完全缺乏褐色脂肪。尽管血小板计数、serotonin content 和 ATP content 都正常，但是在 m/m 纯合子中出现出血时间延长和血小板 AD 水平下降的现象。纯合子小鼠黑色肥胖，杂合小鼠黑色瘦，野生型小鼠灰色瘦、腹白毛，大小都正常。

遗传学信息：

遗传背景：**C57BLKS**

品系类型：基因突变

相关基因：Dock7、Lepr

饲养信息：

配繁策略:

double heterozygotes x double heterozygotes

配繁特性:

当维持种群时，一般可以双杂合进行保种。

基因型鉴定方案:

1) 鉴定引物:

引物名称	序列 (5'-3')	引物类型
GAP2017-1	AGA ACG GAC ACT CTT TGA AGT CTC	forward
GAP2017-2	CAT TCA AAC CAT AGT TTA GGT TTG TGT	reverse

2) PCR 反应体系及扩增程序:

反应程序 A**扩增程序**

组分	终浓度	步骤	温度(°C)	时间	说明
ddH ₂ O		1	94.0	--	
AB PCR buffer	1.00 X	2	94.0	--	
MgCl ₂	2.00 mM	3	52.0	--	
dNTP	0.20 mM	4	72.0	--	2-4 步重复 35 个循环
GAP2017-1	1.00 μM	5	72.0	--	
GAP2017-2	1.00 μM	6	10.0	--	保持
Taq DNA Polymerase	0.03U/ul				
DNA					

反应程序 B

组分	终浓度
ddH ₂ O	
AB PCR buffer	X
Rsal	

3) 预期结果:

基因型	预期结果
纯合子	108bp 和 27bp
杂合子	27bp、108bp 和 135bp
野生型	135 bp

应用领域:

1. 糖尿病和肥胖症研究: 高血糖; II型糖尿病小鼠模型
2. 内部器官研究: 愈伤 (延迟/损伤)
3. 糖尿病并发症研究: 糖尿病肾病、视网膜病变

注意事项:

10 要

1. 经常检查水的供应, 保证足够的供应: 糖尿病小鼠摄水量比野生型小鼠多。
2. 确保小鼠能够正常获得水和食物: 肥胖小鼠跟对照小鼠相比起来, 在找到食物和水方面更困难一些。
3. 提供多余的食物: 如果你在用食欲过盛的小鼠做实验, 比如 ob/ob 小鼠和 db/db 小鼠, 请提供多余的食物。
4. 提供更多的垫料: 因为糖尿病小鼠是典型的多尿品系。
5. 更加频繁的换垫料 (一周两次): 使用多尿的品系时, 可以考虑用纤维素类的垫料像 ALPHA-Dri®, 这种垫料具有很好的吸水性, 能有效的控制氨含量。
6. 给予更多的关注。压力会延迟小鼠疾病的发生, 使他们的表型减弱。
7. 选择合适鼠龄的小鼠用于实验: 因为很多糖尿病小鼠的疾病发生是与年龄相关的。
8. 选择合适的性别用于实验: 很多时候, 外显率和疾病的严重性是与性别相关的。例如, 在 20 周鼠龄时, 只有 50% 的 NOD/ShiLtJ (stock # 001976) 雄鼠会得糖尿病, 但是会有 90% 的同龄雌鼠会得糖尿病。
9. 做一个全面的分析来确定样本的数量: 准备额外的小鼠, 确保有足够的小鼠数量用于表达某一特定表型的研究, 使实验数据具有统计学意义。
10. 考虑滚动式的实验设计: 在你没有大量小鼠的情况下, 糖尿病的生物模型经常需要非同步的研究, 但是一些诱导模型 (STZ 阻断 beta 细胞) 不能进行非同步研究。

10 不要

1. 避免给小鼠压力: 小鼠的糖尿病表型对恶性应激很敏感。应激水平可能会影响与小鼠体重增加和高血糖症的出现, 这一点在 lep ob/ob 和 lepr db/db II型糖尿病小鼠身上表现及其明显。积极采取预防措施可以增强表型稳定性。
2. 不要忽视动物福利带来的效益: 塑料型的方形鼠笼或圆形鼠笼, 软纤维嵌套材料、咀嚼材料像 Nylabones®, 这些都可以减少应激, 促进小鼠行为。
3. 不要忽视动物设施环境: 病原体的存在会延迟或阻止糖尿病的发生 (在 NOD 小鼠身上表现及其明显)。
4. 不要不定时测量血糖: 测高血糖的最佳时期是在早上 (在一晚上很好的休息和饮食之后)。
5. 不要用不同的采血方式: 采血方式的不同血糖值会有有差异。(如眼球取血和尾静脉取血)

6. 即使相同,也不是所有的小鼠都会在同一时间点出现高血糖:需备多余的小鼠弥补这一缺陷。

7. 避免使用纯合子小鼠 (*lep ob/ob* or *lepr db/db*) 来繁育:肥胖糖尿病小鼠有其他活动(吃)。另外,纯合子的小鼠是不育的。

8. 不要在食盒中放置食物:由于 Type 2 db 糖尿病小鼠会出现肥胖,所以在鼠笼底部上多放些食物能确保小鼠很容易吃到,即使到他们很非常胖的时候依然可以吃到。

9. 如果您准备买小鼠做实验,避免小鼠到达后立即开始试验:适应环境是非常关键的,根据不同的需要,适用期不同,但最好是至少是2周左右。在适应期间,小鼠可能运输的应激状态中恢复,并重新适应新环境。

10. 不要将不同背景但相同突变的小鼠混养和交配:糖尿病表型是受品系背景的影响的。例如, *Lepr<db>*突变的 C57BLKS 基因背景的小鼠(stock # 000642)出现晚期糖尿病伴随胰岛萎缩。他们都是高血糖的,随着时间会越来越严重。另一方面, *Lepr<db>*突变的 C57BL/6J 基因背景的小鼠(stock # 000697)不会出现晚期糖尿病和胰岛萎缩。这些小鼠是很好地研究早期糖尿病模型,它们的表型在14-16周的表现突出。

参考文献:

1. Chen H., et al., 1996. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 84(3):491-5.
2. Chua SC Jr., et al., 1996. Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor [see comments] *Science* 271(5251):994-6.
3. Dardenne M; Savino W; Bach JF. 1984. Autoimmune mice develop antibodies to thymic hormone: production of anti-thymulin monoclonal autoantibodies from diabetic (db/db) and B/W mice. *J Immunol* 133(2):740-3.
4. Fantuzzi G; Faggioni R. 2000. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol* 68(4):437-46.
5. Gueorguiev M; Goth ML; Korbonits M. 2001. Leptin and puberty: a review. *Pituitary* 4(1-2):79-86.
6. Hummel KP; Dickie MM; Coleman DL. 1966. Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science* 153(740):1127-8.
7. Kampfer H., et al., 2000. Lack of interferon-gamma production despite the presence of interleukin-18 during cutaneous wound healing. *Mol Med* 6(12):1016-27.
8. Lee GH., et al., 1996. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379(6566):632-5.
9. Leiter EH; Chapman HD. 1994. Obesity-induced diabetes (diabesity) in C57BL/KsJ mice produces aberrant trans-regulation of sex steroid sulfotransferase genes. *J Clin Invest* 93(5):2007-13.
10. Mandel MA; Mahmoud AA. 1978. Impairment of cell-mediated immunity in mutation diabetic mice (db/db). *J Immunol* 120(4):1375-7.
11. Serreze DV., et al., 1988. Molecular mimicry between insulin and retroviral antigen p73. Development of cross-reactive autoantibodies in sera of NOD and C57BL/KsJ db/db mice. *Diabetes* 37(3):351-8.

12. Yoon JW., et al., 1988. Genetic control of organ-reactive autoantibody production in mice by obesity (ob) diabetes (db) genes. *Diabetes* 37(9):1287-93.
13. <https://www.jax.org/strain/000642>