

以下範例-感恩作者(慈濟大學分子暨人類遺傳學系靖永皓老師)的分享與提供!

【實驗動物繁殖計劃書範例】

$Zbtb16^{lu}$ (C57BL/6)及 $Zbtb16^{7t}$ (C3H/He)都是帶有 $Zbtb16$ 基因變異的小鼠。
 $Zbtb16^{lu}$

突變鼠的表現型包括有後肢多趾症及公鼠不孕症，但 $Zbtb16^{7t}$ 只有後肢多趾症的表現型。

此計劃將使用不同年齡、基因型的公鼠，收取其精巢，粹取 RNA 以進行轉錄特徵的探討。亦將建立一公二母的繁殖對，並每日檢察母鼠是否受精，以推算胚胎受孕年齡。之後用帝王切開法犧牲母鼠，取適當天數的胚胎進行原位雜交 (*in situ* hybridization)，以了解某些基因產物 (RNA 或 Protein) 在胚胎肢芽脊的表達情況。此實驗每一品系約將使用公鼠 10 頭母鼠 50 頭，兩個品系共 120 頭小鼠。因繁殖時所產生的小鼠其基因型無法控制，跟據孟德爾第二定律計算，約有 25% 的小鼠其基因型為無實驗價值的 wildtype，僅能供作對照組使用。另外，母鼠有時雖然受精卻不一定會受孕。以此計算實驗所需約之小鼠胚胎隻數(一個品系 60 頭小鼠) 共 400 的總隻數，詳細計算如下：

每一個突變家族需要

- 1 E13.5 之 heterozygote 小鼠胚胎 50 隻 (25 隻用於 *in situ* hybridization ; 25 隻用於 whole mount immuno-staining)
- 1 E13.5 之 homozygote 小鼠胚胎 50 隻 (25 隻用於 *in situ* hybridization ; 25 隻用於 whole mount immuno-staining)
- 1 六天大之 heterozygote 公鼠 18 隻 (用於 microarray analysis)

- 1 六天大之 homozygote 公鼠 18 隻(用於 microarray analysis)

假設:以平均每一胎有 6 隻胚胎計算，並考慮到約有 40%母鼠雖然受精卻不受孕(60%的受精為有效懷孕)，以及 25%的小鼠其基因型為 wildtype。

- 1 每一個突變家族實驗共需要的樣本數為: $(50+50+18+18)=136$ 隻胚胎或幼鼠。
- 1 25%的小鼠其基因型為 wildtype，因此需要收集: $136 \div 0.75=181$ 隻胚胎
- 1 平均每一胎有 6 隻胚胎，因此需要: $181 \div 6=30$ 次有效懷孕。
- 1 60%的受精為有效懷孕，因此需要約 $30 \div 0.6=50$ 隻成熟 heterozygot 母鼠
- 1 欲收集 50 隻 heterozygote 成熟母鼠則需要生產 400 隻成熟鼠 (heterozygote intercross matting 約 50%子代為 heterozygote；其中只有 50%為母鼠)。10 隻成熟 heterozygote 公鼠亦由此 matting 中產生。
- 1 因此要建立 50 隻 heterozygote 成熟母鼠繁殖對，所需之總動物數為：400 隻成熟鼠(包含各基因型及性別)。

本計劃探討因遺傳變異造成生長、發育的異常現象。不論是趾數的發育或是精原母細胞的自體再生 (Spermatogonia stem cell renewal)，都是目前生物醫學研究上且重要的題目。以精原母細胞的自體再生與分化(differentiation)過程的基因表現調控為例，若是分化太多會造成男性因缺乏精蟲導致不孕症，若是

自體再生太多會造成精原母細胞腫瘤。這兩種疾病都是源於精原母細胞的不正常發育所導致。以上之實驗對生物醫學及遺傳學均有其重要性，由於後肢形成的結構，精原母細胞的自體再生都是發生在複雜的環境中並且受到相鄰細胞和環境的調控，目前尚無法用較單純的細胞實驗取代。是故必須使用小鼠為動物模式進行研究。

慈濟大學實驗動物繁殖計畫書寫範例