

แนวทางการปฏิบัติเรื่องการตัดหางหนูไมซ์เพื่อการวิเคราะห์ DNA และ/หรือ Genotyping (Guidelines on Tail Biopsy for DNA Analysis and/or Genotyping of Mice)

จุดมุ่งหมาย

การเก็บเนื้อเยื่อจากหางหนูไมซ์เพื่อการวิเคราะห์ DNA โดยการตัดหางด้วยวิธีปฏิบัติที่เหมาะสมเป็นวิธีที่ปลอดภัย มีประสิทธิภาพ และมีมนุษยธรรม DNA ที่เตรียมได้จากการตัดหางจะเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ทั้งโดยวิธี Southern Blot หรือ PCR สามารถเก็บ DNA จากการขลิบหูสัตว์ จากขน หรือจากวิธี oral swab ได้เช่นกัน

ขั้นตอนการตัดหาง

1. การตัดหางหนูไมซ์เพื่อการวิเคราะห์ DNA และ/หรือ Genotyping ต้องเขียนอธิบายโดยละเอียดในข้อเสนอโครงการขอใช้สัตว์และได้รับอนุมัติโดยคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของสถาบัน
2. หนูไมซ์ต้องมีอายุ 10-21 วัน ซึ่งเป็นช่วงอายุที่เนื้อเยื่อบริเวณหางจะอ่อนนุ่ม (กระดูกยังไม่แข็งตัว) และจะให้ปริมาณ DNA ที่สูง นอกจากนี้การวิเคราะห์เนื้อเยื่อจากหางทันทีช่วยให้ระบุตัวหนูที่จะใช้ได้ตั้งแต่ก่อนหย่านมและช่วยให้จัดการการใช้กรงได้ง่ายและมีประสิทธิภาพ
 - สำหรับหนูไมซ์อายุต่ำกว่า 28 วัน ไม่ต้องให้ยาสลบ
 - หนูไมซ์อายุมากกว่า 28 วัน ต้องให้ยาสลบก่อนตัดเก็บหาง
3. การจับหนูไมซ์ ให้อยู่ระหว่างนิ้วโป้งและนิ้วชี้ซึ่งสะดวกในการเลือกว่าจะใช้วิธีเหมาะสมวิธีใด (เป็นต้นว่า การขลิบหู คัดปายที่หู การติดเครื่องส่ง และอื่นๆ)
4. ให้ใช้มีดผ่าตัดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหรือการใช้กรรไกรสะอาดตัดปลายหางหนูไมซ์ ยาว 5 มม. หากขั้นตอนต่างๆกระทำอย่างถูกต้อง ปริมาณของ DNA ที่ได้ควรมากกว่า 50 ไมโครกรัม ซึ่งเพียงพอต่อการวิเคราะห์หลายๆครั้ง และปริมาณ DNA ที่ได้ไม่ได้เป็นส่วนใดโดยตรงกับการเพิ่มความยาวของหางที่ตัด การตัดหางยาวมากกว่า 5 มม. ต้องอธิบายไว้อย่างละเอียดในข้อเสนอโครงการขอใช้สัตว์ในกรณีที่ต้องการปริมาณ DNA เพียงเล็กน้อย นักวิจัยควรพิจารณาตัดหางหนูเพียง 2 มม. สำหรับการวิเคราะห์ RNA และ DNA ต้องมีการดูแลอย่างดีเพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างปนกัน ไม่ใช่มีดผ่าตัดหรือกรรไกรอันเดียวกัน หรือเลือกใช้เครื่องมือชุดใหม่กับสัตว์ต่างกลุ่มการทดลอง
5. นักวิจัยต้องสังเกตสัตว์เพื่อให้แน่ใจว่าสัตว์เลือดหยุดไหลแล้วก่อนนำสัตว์ไปคืนไว้ในกรง โดยใช้ digital pressure, silver nitrate, ใช้ไฟจี้ (electric cautery), surgical glue หรือวิธีห้ามเลือดอื่นๆ
6. การตัดหางซ้ำต้องให้ยาสลบ

เอกสารอ้างอิง

1. Hofsteter JR, Shang A, Mayeda AR, Guscar T, Nurnberger JI and Lihiri DK Genomic DNA from Mice: A Comparison of Recovery Methods and Tissue Sources. *Biochem Mol Med* 1997 Dec; 62(2):197-202
2. Dennis MB. IACUC Review of Genetic Engineering. *Lab Animal* 2000 Mar 29 (3):34-37.
3. Irwin MH, Moffatt RJ and Pinkert CA. Identification of transgenic mice by PCR analysis of saliva. *Nat Biotechnol* 1996 Sep;14(9) 1146-8.
4. M Fitzgerald and S Gibson. The postnatal physiological and neurochemical development of peripheral sensory C fibres. *Neuroscience* 1984 13(3):933-944.
5. M. Fitzgerald. Post-natal development of cutaneous afferent fibre input and receptive field organization in the rat dorsal horn. *J Physiol* 1985 364:1-18.