

DB43

湖 南 省 地 方 标 准

DB43/ T 958.1—2014

实验用小型猪 第 1 部分：遗传质量控制

Experimental minipig
Part 1: Genetic quality control

2014-10-27 发布

2014-12-26 实施

湖南省质量技术监督局 发布

目 次

前言 II

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 1

4 遗传分类及命名..... 1

5 繁殖..... 2

6 近交系实验用小型猪的遗传质量监测..... 3

7 封闭群实验用小型猪的遗传质量监测..... 3

前 言

本部分按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

《实验用小型猪》分为五个部分：

- 第 1 部分：遗传质量控制；
- 第 2 部分：微生物学等级与监测；
- 第 3 部分：配合饲料；
- 第 4 部分：病理学诊断规范；
- 第 5 部分：环境与设施。

本部分为《实验用小型猪》的第 1 部分。

本部分由湖南省科技实验动物管理办公室提出并归口。

本部分起草单位：中南大学湘雅三医院，湖南赛诺生物科技有限责任公司。

本部分主要起草人：王维、易受南、俞远京、胡鹏志、郭飞、马海明。

实验用小型猪 遗传质量控制

1 范围

本部分规定了实验用小型猪的遗传分类、繁殖方法、近交系及封闭群的遗传质量标准。本部分适用于实验用小型猪的遗传质量控制。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 14923 实验动物 哺乳类动物的遗传质量控制

NY/T 1673 畜禽微卫星 DNA 遗传多样性检测技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实验用小型猪 experimental minipig

经人工饲养与培育，对其携带的病原微生物、寄生虫进行控制，遗传背景明确或者来源清楚，12月龄体重宜不超过 50kg，用于科学研究（非临床应用研究）、教学、生产、质量控制鉴定以及其他科学实验的小型猪。

3.2

近交系 inbred strain

经至少连续 15 代的全同胞兄妹交配培育而成，品系内所有个体都可追溯到起源于一对共同祖先。近交系数（inbreeding coefficient） $>96.1\%$ ，或经微卫星检测基因纯合度 $>80\%$ 。

经连续 15 代以上亲代与子代交配和全同胞兄妹交配有等同效果。

3.3

封闭群（远交群） closed colony (outbred stock)

以非近亲交配方式进行繁殖生产的实验用小型猪种群，在不从外部引入新个体的条件下，至少连续繁殖 4 代以上且每一代近交系数增量不超过 1%。

4 遗传分类及命名

4.1 遗传分类

根据遗传特点的不同，实验用小型猪分为近交系和封闭群。

4.2 命名

4.2.1 近交系命名

近交系一般以大写英文字母命名，亦可以用大写英文字母加阿拉伯数字命名，符号应尽量简短。如 XENO 等。

4.2.2 近交代数

近交系的近交代数用大写英文字母 F 表示。例如当一个近交系的近交代数为 30 代时，写成 (F30)。

4.2.3 其它近交系

亚系、支系、重组近交系、同源突变近交系以及同源导入近交系的定义和命名按照 GB 14923 执行。

4.2.4 封闭群命名

封闭群的命名按照 GB 14923 执行。

5 繁殖

5.1 近交系的繁殖

5.1.1 原则

选择近交系实验用小型猪繁殖方法的原则是保持近交系小型猪的同基因性及基因纯合性。

5.1.2 引种

作为繁殖用种猪的近交系实验用小型猪，应来自于近交系的基础群或血缘扩大群，遗传背景明确，有完整的资料（包括品系名称、近交代数、遗传基因特点及主要生物学特征等）。

5.1.3 方法

可分为基础群(foundation stock)、血缘扩大群(pedigree expansion stock)和生产群(production stock)。当近交系实验用小型猪生产供应数量不是很大时，一般不设血缘扩大群，仅设基础群和生产群。基础群、血缘扩大群和生产群的具体繁殖方式按照 GB 14923 执行。

5.2 封闭群的繁殖

5.2.1 原则

选择封闭群实验用小型猪繁殖方法的原则是保持封闭群小型猪的遗传异质性及基因多态性，避免近交系数增速过快。

5.2.2 引种

5.2.2.1 作为繁殖用种子的封闭群实验用小型猪应遗传背景明确或来源清楚，有完整的资料（包括种群名称、来源、遗传基因特点及主要生物学特性等）。

5.2.2.2 根据繁殖方式，在保证每代近交系数增量不大于 1%的前提下，决定最小引种规模。如采用循环交配方式，引种数量不得少于 13 对无血缘关系（三代以内无共同祖先）的公母猪；若采用随机交配方式，引种数量不得少于 25 对无血缘关系的公母猪。

5.2.3 方法

封闭群应保持封闭群实验用小型猪的遗传基因的稳定，并尽量避免近亲交配。具体繁殖方法按照 GB 14923 执行。

6 近交系实验用小型猪的遗传质量监测

6.1 检测方法

采用微卫星 DNA 标记检测方法。具体方法按照 NY/T 1673 执行，各微卫星 DNA 标记的染色体位置、等位基因数、等位基因片段范围、引物序列、荧光标记、PCR 反应的 T_m 值、镁离子浓度等见表 4。

6.2 抽样

对基础群，凡在子代留有种猪的双亲动物都应进行检测。
对生产群，按表 1 要求从每个近交系中随机抽取非同窝成年猪，公母各半。

表 1 近交系实验用小型猪遗传检测抽样要求

生产群中种母猪数量	抽样数量
<50头	5%
50-100头	3%
100-500头	2%
>500头	1%

6.3 结果判定

近交系实验用小型猪遗传检测结果的判定按表 2 执行。

表 2 近交系实验用小型猪遗传检测结果判定标准

检测结果	判定
与标准遗传概貌完全一致	未发现遗传变异
有一个位点的标记基因与标准遗传概貌不一致	遗传发生变异

6.4 判定结论

所有样品检测位点的等位基因都符合品系的特征，没有新的等位基因出现为合格实验用小型猪近交系，否则判为不合格。

6.5 检测频率

近交系实验用小型猪生产群每年至少进行一次遗传质量检测。

7 封闭群实验用小型猪的遗传质量监测

7.1 检测方法

采用微卫星 DNA 标记检测方法。具体方法按照 NY/T 1673 执行，各微卫星 DNA 标记的染色体位置、

等位基因数、等位基因片段范围、引物序列、荧光标记、PCR 反应的 T_m 值、镁离子浓度等见表 4。

7.2 抽样

按表 3 要求从每个封闭群中随机抽取非同窝成年猪，公母各半。

表 3 封闭群实验用小型猪遗传检测抽样要求

群体数量	抽样数量
<50头	5%
50-100头	3%
100-500头	2%
>500头	1%

7.3 结果判定

群体内遗传变异采用平均杂合度指标或群体平衡状态方法进行评价。

当平均杂合度在 0.5-0.7 时，且期望杂合度与观测杂合度经卡方检验无明显差异时，群体为合格的封闭群实验用小型猪群体。或用群体是否达到平衡状态来判定，如果没有达到平衡状态，说明群体的基因频率或基因型频率发生变化，该封闭群实验用小型猪群体判为不合格。具体方法按照 NY/T 1673 执行，各微卫星 DNA 标记的染色体位置、等位基因数、引物序列及荧光标记，PCR 反应的 T_m 值、镁离子浓度见表 4。

7.4 检测频率

封闭群实验用小型猪生产群每两年至少进行一次遗传质量检测。

表 4 各微卫星 DNA 分子标记所在的染色体位置、等位基因数、等位基因片段范围、荧光标记、两侧引物序列（左侧：F，右侧：R）、退火温度和镁离子浓度

分子标记名称	染色体位置	等位基因数（个）	等位基因片段范围（bp）	荧光标记	引物序列5'→3'	T _m （℃）	Mg ²⁺ （mM）
S0155	1	7	148-164	FAM	F-TGTTCTCTGTTTCTCCTCTGTTTG R-AAAGTGGAAGAGTCAATGGCTAT	58	1.5
S0001	4	6	175-189	FAM	F-TGGATGGGTCTCATTTCTCAG R-TGATTCCTAGCCTGAGAAGC	50	1.5
S0005	5	10	200-248	FAM	F-TCCTTCCCTCCTGGTAACTA R-GCACTTCCTGATCTGGGTA	55	3.0
S0087	6	17	161-220	FAM	F-GACAAGCTCCAGGAAGCTTTCTG R-ATTGCCTTGTGATCCCAAGGGGCA	58	1.5
S0101	7	13	196-230	FAM	F-GAATGCAAAGAGTTCAGTGTAGG R-GTCTCCCTCACACTTACCGCAG	58	1.5
S0225	8	7	170-194	HEX	F-GCTAATGCCAGAGAAATGCAGA R-CAGGTGGAAAGATGGAATGAA	58	1.5
SW174	9	5	123-136	TAMRA	F-GCCAAAATAGCTATTGGACAGC R-TCATGCTATTTTGTCCAGATG	58	1.5
S0009	11	9	96-133	FAM	F-AAACATACCAAGAAGCCCAG R-TAATCTTTGCCATCCCTTGT	62	1.5
SW605	12	5	109-135	TAMRA	F-AGCCTTCTGTGCAGAAAAGC R-CCCCAGGTTCTCTGCTCTC	58	1.5

表 4 （续）

分子标 记名称	染色体 位置	等位 基因数 (个)	等位基因 片段范围 (bp)	荧光 标记	引物序列5'→3'	T _m (°C)	Mg ²⁺ (mM)
SW769	13	7	104-139	HEX	F-GGTATGACCAAAAGTCCTGGG R-TCTGCTATGTGGGAAGAATGC	55	3.0
SW857	14	6	134-160	TAMRA	F-TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC R-GATCCTCCTCCAAATCCCAT	55	1.5
S0355	15	14	243-277	HEX	F-TCTGGCTCCTACACTCCTTCTTGATG R-TTGGGTGGGTGCTGAAAAATAGGA	55	3.0
S0026	16	5	90-111	FAM	F-AACCTTCCCTTCCCAATCAC R-CACAGACTGCTTTTACTCC	58	1.5
SW2476	X	6	88-106	TAMRA	F-CTGGAGCAGGAGAAAGTAAGTTC R-GGACAGTTACAGACAGAAGAAGG	62	1.5