

实验用小型猪 遗传质量控制

2023 - 01 - 18 发布

2023 - 04 - 18 实施

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 繁殖方法 2

6 遗传质量监测 2

7 判定结论 6

8 报告 6

山西省地方标准

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由山西省科学技术厅提出、组织实施和监督检查。

山西省市场监督管理局对标准的组织实施情况进行监督检查。

本文件由山西省实验动物标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：山西医科大学。

本文件主要起草人：宋国华、高继萍、陈朝阳、王晓堂、宋晓娜、杨钧婷、闫晓如、郭永昌。

实验用小型猪 遗传质量控制

1 范围

本文件规定了实验用小型猪的遗传分类与命名、繁殖方法、遗传质量监测、判定结论和报告。
本文件适用于实验用小型猪的遗传质量控制。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 哺乳类实验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，对其携带的病原微生物和寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验的小型猪。

3.2

近交系 inbred strain

经连续 20 代及以上的全同胞兄妹或亲代与子代交配培育而成，品系内所有个体都可追溯到起源于第 20 代或以后代数的一对共同祖先。近交系数（inbreeding coefficient）应大于 99%。

3.3

封闭群 closed colony

以非近亲交配方式进行繁殖生产的实验动物种群，在不从外部引入新个体的条件下，至少连续繁殖 4 代以上。

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或加阿拉伯数字命名，符号应尽量简短，如 WSZ。

4.2.2 近交代数

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、重组近交系、重组同类系、同源突变近交系、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 繁殖方法

5.1 近交系实验用小型猪繁殖方法

5.1.1 原则

保持近交系实验用小型猪的同基因性及基因纯合性。

5.1.2 引种

近交系实验用小型猪繁殖用种子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、来源、近交代数、遗传基因特点及主要生物学特征等）。

5.1.3 方法

基础群、血缘扩大群和生产群的繁殖方法按照 GB 14923 执行。当近交系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。

5.2 封闭群实验用小型猪繁殖方法

5.2.1 原则

保持封闭群小型猪的基因异质性和多态性，以非近亲交配方式进行繁殖，避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升。

5.2.2 引种

5.2.2.1 封闭群小型猪繁殖用种子应遗传背景明确，有完整的资料（包括种群名称、来源、近交代数、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。宜采用循环交配方式，最小引种规模为 13 对无血缘关系（三代以内无共同祖先）的公母猪；若采用随机交配的方式，最小引种规模为 25 对无血缘关系的公母猪。

5.2.3 方法

具体繁殖方法按照 GB 14923 执行。

6 遗传质量监测

6.1 近交系实验用小型猪的遗传质量监测

6.1.1 监测方法

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、等位基因分布范围、引物序列、荧光标记、退火温度、镁离子浓度等见表 1。

表 1 各微卫星位点的名称、引物序列、PCR 反应的退火温度、镁离子浓度（Mg²⁺）、荧光标记、染色体位置、等位基因数、等位基因分布范围

座位名称	引物序列 5'→3'	退火温度 (℃)	Mg ²⁺ (mmol/L)	5' 荧光 标记	染色体 位置	等位基 因数	等位基因分布 范围 (bp)
CGA	F-ATAGACATTATGTAAGTTGCTGAT R-GAACTTTCACATCCCTAAGGTCGT	55	2.5	FAM	1q	12	250-320
SW240	F-AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG R-AAACCA TTAAGTCCCTAGCAAA	55	1.5	TAMRA	2p	8	96-115
SW72	F-ATCAGA ACA GTGCGCCGT R-GTTTGA AAATGGGGTGTTC	55	1.5	TAMRA	3p	8	100-116
S0005	F-TCCTTCCCTCCTGGTAACTA R-GCACTTCCTGATTCTGGGTA	55	3.0	FAM	5q	10	205-248
S0090	F-CCAAGACTGCCTTGTAGGTGAATA R-GCTATCAAGTATTGTACCATTAGG	55	1.5	TAMRA	12q	4	244-251
SW769	F-GGTATGACCAAAAGTCCTGGG R-TCTGCTATGTGGGAAGAATGC	55	3.0	HEX	13	7	106-140
SW857	F-F-TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC R-GATCCTCCTCCAAATCCCAT	55	1.5	TAMRA	14	6	144-160
S0355	F-TCTGGCTCCTACACTCCTTCTTGATG R-GTTTGGGTGGGTGCTGAAAAATAGGA	55	3.0	HEX	15	14	243-277
SW24	F-CTTTGGGTGGAGTGTGTGC R-ATCCAAATGCTGCAAGCG	55	1.5	FAM	17	8	96-121
S0218	F-GTGTAGGCTGGCGGTTGT R-CCCTGAACCTAAAGCAAAG	55	1.5	TAMRA	X	8	164-184
注：F 表示正向引物，R 表示反向引物。							

6.1.2 时间间隔

近交系实验用小型猪生产群每年至少进行 1 次遗传质量检测。

6.1.3 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，按照表 2 要求从每个近交系中随机抽取非同窝成年实验用小型猪，公母各半。

表 2 近交系实验用小型猪生产群遗传监测抽样要求

生产群中母猪数量 (N 头)	抽样数量 (头)
N≤50	4
50<N≤100	6
N>100	>6

6.1.4 结果判定

近交系实验用小型猪遗传质量监测结果判定按照表 3 执行。

表 3 近交系实验用小型猪遗传质量监测结果判定

监测结果	判定
与标准遗传概貌完全一致	未发现遗传变异，合格
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，不合格

6.2 封闭群实验用小型猪遗传质量监测

6.2.1 监测方法

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、等位基因分布范围、引物序列、退火温度、镁离子浓度等见表 4。

表 4 各微卫星位点的名称、引物序列、PCR 反应的退火温度、镁离子浓度 (Mg²⁺)、染色体位置、等位基因数、等位基因分布范围

座位名称	引物序列 (5'→3')	退火温度 (°C)	镁离子浓度 (mmol/L)	染色体位置	等位基因数	等位基因分布范围 (bp)
SW974	GGTGAAGTTTTTGCTTTGAACC GAAAGAAATCCAAATCCAAACC	58	2.0	1	17	129-175
S0091	TCTACTCCAGGAGATAAGCCAGAT CAGTGACTCCATGCACAGTTATGA	55	1.5	2	14	96-174
SW240	AGAAATTAGTGCCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAAA	58	1.5	2	11	92-114
SW1066	GCAGGATGAACCACCCTG CTCTTGAGGCAACCTGCTG	60	2.0	3	19	166-214
SW1089	TTTTCCCCTTCACTCACCC GATCAAAGTCCCTTACTCCGG	58	1.5	4	10	142-190
S0005	TCCTTCCCTCCTGGTAACTA GCACTTCCTGATTCTGGGTA	54	2.0	5	11	204-244
SW1057	TCCCCTGTTGTACAGATTGATG TCCAATTCCAAGTTCCACTAGC	58	2.0	6	14	142-191
SW632	TGGGTTGAAAGATTTCCTCAA GGAGTCAGTACTTTGGCA	54	2.0	7	9	148-173
OPN	CCAATCCTATTACGAAAAAGC CAACCCACTTGCTCCAC	59	2.0	8	12	138-170

表4 各微卫星位点的名称、引物序列、PCR反应的退火温度、镁离子浓度（ Mg^{2+} ）、染色体位置、等位基因数、等位基因分布范围（续）

座位名称	引物序列（5'→3'）	退火温度（℃）	镁离子浓度（mmol/L）	染色体位置	等位基因数	等位基因分布范围（bp）
SW29	AGGGTGGCTAAAAAAGAAAAGG ATCAAATCCTTACCTCTGCAGC	61	2.0	8	12	133-187
SW911	CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAAAGCC	60	2.0	9	14	151-178
SW511	AAGCAGGAATCCCTGCATC CCCAGCCACCAGTCTGAC	62	1.5	9	12	161-196
SWr158	TCCAATTCAACTCCTGGCTC GAATGTGCACATACCACATGC	60	2.0	10	18	158-200
SW951	TTTCACTCTGGCACCAG GATCGTGCCCAATGGAC	58	1.5	10	14	108-142
SW271	TTCCAGTGGCTTTCTGTGC CATTCATCCCAGTGAACTTG	58	1.5	11	13	111-144
S0386	TCCTGGGTCTTATTTCTA TTTTTATCTCCAACAGTAT	48	2.0	11	12	155-178
S0068	CCTCAACCTTTGAGCAAGAAC AGTGGTCTCTCTCCCTCTTGCT	62	2.0	13	10	210-256
SWr1008	ACAGCCACCAACAGTGTTTG GAACTTCCATATGCTGCAAGTG	62	2.0	13	16	98-256
S0007	TTACTTCTTGATCATGTC GTCCCTCCTCATAATTTCTG	54	2.0	14	15	142-192
SW857	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC GATCCTCCTCCAAATCCCAT	58	2.0	14	16	129-173
SWr312	ATCCGTGCGTGTGTGCAT CTGGTGGCTACAGTTCCGAT	64	1.5	15	11	116-136
SW81	GATCTGGTCTGCACAGGG GGGGCTCTCAGGAAGGAG	60	1.5	16	8	128-144
SWr1120	CAAATGGAACCCATTACAGTCC ACTCCTAGCCCAGGAGCTTC	60	1.5	17	11	147-178
S0062	AAGATCATTTAGTCAAGGTCACAG TCTGATAGGGAACATAGGATAAAT	56	2.0	18	12	144-204
S0218	GTGTAGGCTGGCGTTGT CCCTGAAACCTAAAGCAAAG	54	1.5	X	11	158-196

6.2.2 时间间隔

封闭群实验用小型猪生产群每年至少进行 1 次遗传质量检测。

6.2.3 抽样

按照表 5 要求从每个封闭群中随机抽取非同窝成年实验用小型猪，公母各半。

表 5 封闭群实验用小型猪遗传质量监测抽样要求

群体数量 (N 头)	抽样数量 (头)
$N \leq 100$	≥ 15
$N > 100$	≥ 30

6.2.4 结果判定

封闭群实验用小型猪遗传质量监测结果判定按照表 6 执行。

表 6 封闭群实验用小型猪遗传质量监测结果判定

监测结果	判定
达到平衡状态	未发现遗传变异, 合格
没有达到平衡状态	遗传发生变异, 不合格

7 判定结论

所有项目的检测结果均合格, 判为符合相应类群的遗传标准, 否则判为不符合相应类群的遗传标准。

8 报告

应根据检测结果, 出具报告。