

QB

斯贝福生物技术有限公司企业标准

Q/BZ 2023-0003

实验动物 近交系棉鼠遗传质量控制

Laboratory Animal - Genetic quality control of Inbred Cotton Rat

2023-01-06 发布 2023-03-01 实施





前言

本部分按照 GB/T 1.1—2020 给出的规则起草。

本部分由斯贝福生物技术有限公司提出。

本部分由斯贝福生物技术有限公司组织实施。

本部分起草单位: 斯贝福生物技术有限公司。

本部分主要起草人: 战大伟, 王妍, 张晓晴, 陈红, 谢飞, 张桐, 陈振文



Q/BZ 2023-0003

实验动物 近交系棉鼠遗传质量控制

1 范围

本本标准规定了近交系棉鼠的命名、繁殖方法和遗传质量的检测方法。本标准适用于近交系棉鼠的遗传质量监测。

2 规范性引用文件

下列标准所包含的条文,通过在本部分中引用而构成为本部分的条文。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本部分。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本部分。

GB 14923-2022 实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制

3 术语与定义

下列术语和定义适用于本部分。

3.1 棉鼠 cotton rat

来源于野生棉鼠,动物分类学上属于哺乳纲、啮齿目、仓鼠科、棉鼠属,经过人工饲养和培育而成的一种小型哺乳类实验动物。体型与大鼠相似,背部灰褐、腹部浅灰,有白化变种。

3.2 近交系棉鼠 inbred cotton rat

一个棉鼠群体中,任何个体基因组中98.6%以上的座位为纯合时定义为近交系棉鼠。

4 命名

命名按照 GB 14923 执行。

5 繁殖

选择近交系棉鼠繁殖方法的原则,是保持近交系棉鼠的同基因性及其基因纯合性。

5.1 引种

作为繁殖用引种的近交系棉鼠必须遗传背景明确,来源清楚,较完整的资料(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),引种棉鼠质量和数量按照 GB 14923 执行。

5.2 繁殖方法

近交系棉鼠的繁殖分为基础群(foundation stock)、血缘扩大群(pedigree expansion stock)和生产群(production stock)。当近交系棉鼠生产供应数量不是很大时,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繁育方式按照 GB 14923 执行。

6 近交系棉鼠的遗传监测

6.1 检测方法

采用微卫星 DNA 标记(Short Tandem Repeats, STR)检测方法。具体方法执行附录 A。用 30 个 STR 位点检测棉鼠的遗传概貌。

6.2 近交系遗传监测 6.2.1 检测频率

近交系棉鼠每年至少进行一次遗传质量检测。

6.2.2 抽样

随机采取棉鼠的血液/鼠尾或其他组织。

基础群留种动物的双亲均应进行遗传检测,各生产群体采取随机抽取非同窝成年动物雌雄各半,抽样数量按照表 1 规定执行。

表 1 近交系棉鼠遗传检测采样数量





雌鼠种群数量 (只)	抽样数目(只)
<100	≥6
≥100	群体数量×6%

6.2.3 结果判定

近交系棉鼠采用 STR 分子标记位点特征进行评价,当品系内所有遗传检测个体的 STR 位点与标准参考位点完全一致时,该群体未发生遗传变异,遗传质量合格;当有 1 个位点的分子与标准参考位点不一致时,增加检测位点数目和增加检测方法后复检,当只有 1 个标记基因改变且检测个体均一致时,可命名为同源突变系;2 个或 2 个以上位点的标记基因与标准参考位点不一致或为多态/杂合子时,近交系群体判为不合格。



Q/BZ 2023-0003

附录A

(规范性附录)

棉鼠微卫星 DNA 标记检测方法

A.1 微卫星分子标记检测的原理

采集棉鼠的血液或尾组织,提取基因组 DNA。对特定的微卫星标记位点进行 PCR 扩增,通过遗传分析仪检测各位点基因的峰形和大小,确定微卫星标记的遗传概貌。

A.2 仪器设备

4℃和-20℃冰箱,低温高速离心机,水浴锅,感量为 0.0001g 的分析天平, Nanodrop, PCR 仪,电泳仪和电泳槽,震荡仪,组织匀浆器,微波炉,凝胶成像仪等。

A.3 微卫星 DNA 遗传标记检测方法

- A.3.1 样本的采集
- A.3.1.1 静脉采血 0.2 mL, 加等量的血液裂解液。
- A.3.1.2 采集大小 2~5 mm 的尾组织样, -20℃保存。

A.4 基因组 DNA 的提取

- A.4.1 用苯酚氯仿法或试剂盒提取基因组 DNA。
- A.4.2 微卫星标记位点

选择 30 个棉鼠 STR 位点用于近交系棉鼠遗传检测的 STR 标记。

棉鼠 STR 分子标记的名称、引物序列、产物长度和核心序列见表 A1。

表 A1 近交系棉鼠 STR 遗传检测位点信息

农和 是关系制度 STR 医良恒网 医黑白心							
编号	核心	长度		上游引物 (5'→3')*		下游引物(5'→3')	
<i>判</i> 刑 勺	序列	/bp	名称	序列	名称	序列	
SPF	A	320	SPF	CCTAAAGGGCAGCCAGTG	SPF	AGGTGGAGCTCTGCATT	
104	A	320	104F	TT	104R	TGA	
SPF	T	291	SPF	ACCTGCTCAGACCCATTAC	SPF	TAGGGTTGGTGCCTGTT	
105	1	291	105F	AC	105R	GTG	
SPF	A	257	SPF	CCAGGTGGAGATCAAACC	SPF	ATTCATGAGGGCAGCAG	
108	A	231	108F	CG	108R	CATC	
SPF	G	287	SPF	AGTACCATGTGCTCTACTG	SPF	GCCAGAGTCTGAGCAAG	
109	U	207	109F	GC	109R	TCAT	
SPF	C	264	SPF	AGTCCCCATGGGTAAGCC	SPF	GGACACTGCCCACATGT	
111		204	111F	AA	111R	AGTA	
SPF	\mathbf{C}	210	SPF	AGAGAAAGCTGCTCCCTT	SPF	TACTAAGGCCGTCACTC	
112		210	112F	GAC	112R	AGC	
SPF	TC	349	SPF	CAATGGTTGCCTGTTGCCT	SPF	GCCTCTTCCCTGTGCTAT	
001	10	349		AC	001R	CTG	
SPF	TG	345	SPF	ACTGGCCCCAAATCAAGG	SPF	AAGCCGAATAATGGGGG	
014	10		014F	TA	014R	AGG	
SPF	AC	317	SPF	CACAAGGCTCCTCCCTTAG	SPF	CCCGACCTAGTGGAGCT	
023	AC 317		023F	C	023R	TTC	
SPF	AC	199	SPF	CCAGTCAGTACGAAAGGT	SPF	GCTAGGGATTTACAGCC	



0255 O25F GGT 025R CACA SPF A317 SPF AGGGCAGGAACAGCTAA SPF ATTGCCGGGGTAGAAT SPF 335 TG 035F TG 035R GTG SPF AC 348 SPF CCACACCACAACTAGGAA SPF CAGCCAGTCTTCTGTTG SPF AT 302 SPF AGTCCATAAGCCCACTCT SPF CAGCCAAGTGGAAC SPF AG 347 SPF ACATAGTGAGCATAGTGAG SPF TTGTGACCAAGTGGAAC SPF AG 347 SPF ACATAGTGGACCATCATC SPF TTGGGAACTAAGCCCT SPF AG 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF GGGTGGAACGACCT SPF AG 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGCCTTCG SPF GA 320 SPF ACCACTCTCTTTTCAGGT SPF CAGAGCAGGCCTTCTG SPF GA 329 SPF ACCACTCTCTTTTACATC SPF TGAGCCAGGACTTTCT SPF									
O35	025			025F	GGT	025R	CACA		
035 035F CACACCACACACACTAGGAA 035R GIG 036 AC 348 036F CCACACCACACACTCT SPF CAGCCAGTCTTCTGTTG SPF AT 302 SPF AGTCCATAAGCCCACTCT SPF CAGCCAGTGTTCTGTGAC SPF AG 347 SPF AGATAGTGAGCATAGTGAG SPF TTGTGGAACTAAGCCCT SPF AG 347 SPF ACATAGTGAGCATAGTGAG SPF TCTGGGAACTAAGCCCT SPF GT 295 SPF CAGTGGAACCACTCACT SPF GGGTGGGAAGGACACT A8 GT 295 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF GGGGTGGAACGACTAGGCCTTAG SPF GA 320 SPF ACACCTCTCTCTTTTCGGGT SPF ACTGGAACAGGGCTTCTG SPF GA 329 SPF CACCCTGAGGTGCTTAG SPF ACAGAACAGGCCTTCTG SPF GA 293 SPF CTTTAGCTCTATGGCCT SPF TGAGCCAGGAGCTTCTC SPF TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF	SPF	CA	217	SPF	AGGGCAGGGAACAGCTAA	SPF	ATTGCCGGGGGTAGAAT		
036 AC 348 036F CAGA 036R GAAT SPF AT 302 SPF AGTCCATAAGCCCACCTCT SPF TTGTGACCAAGTGGAAC SPF AG 347 SPF ACATAGTGAGCATAGTGAG SPF TTTACCT SPF AG 347 SPF ACATAGTGAGCATCATC SPF TTGGGAACTAAGCCACT SPF GT 295 SPF CAGTGGAACCACTCATC SPF GGGTGGGAAAGGACACT 448 AC 295 SPF CAGCCTGAGGTGCTAAAA SPF GGGTGGAACGACGCTTCG 448 AC 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGGCTTCG 5PF GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTTCTGGT SPF CCAAGACAGGCCTTCTG 5PF GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF CCAAGACAGGCCTTCTCT 5PF AC 341 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT 5PF AC 314 SPF TGCTAAAGTACTTCTCTC	035	CA	317	035F	TG	035R	GTG		
036 G36F CAGA 036R GAAI SPF AT 302 037F AGTCCATAAGCCCACCTCT SPF TTGTGACCAAGTGGAAC SPF AG 347 SPF ACATAGTGAGCATAGTGAG SPF TTGGGAACTAAGCCCT SPF GT 295 SPF CAGTGGAACCCACTCATC SPF GGTGGGAAGGACACT A8 GT 295 SPF CAGTGGAACCACTCATC SPF GGTGGGAAGGACACT A8 AC 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGGCTTAG O49 AC 343 SPF ACCACTCTCTCTTTCGGGT SPF CCAAGACAGGCCTTCTG O51 GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTCATGGCCTTG SPF CCAAGACAGGACTTTCT SPF GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACACACTGTGGC SPF TAT		A.C.	2/19	SPF	CCACACCACAACTAGGAA	SPF			
037 AI 302 037F CT 037R TTACCT SPF AG 347 SPF ACATAGTGAGCATAGTGAG SPF TCTGGGAACTAAGCCCT SPF GT 295 SPF CAGTGGAACCCACTCATC SPF GGGTGGGAAGGACACT A48 GT 295 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGGCTTAG SPF AC 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGGCTTAG SPF GA 320 SPF ACCACCTCTCTCTTTTCGGGT SPF AGAT SPF GA 293 SPF ACCACTCTCTCTTTTACATCT SPF TGAGCCAGGAGCTTCTCT SPF GA 293 SPF TGCTAAGTACTTGCTGGCC SPF TGAGCCAGGAGCTTACCA SPF TG 342 SPF TGCTAAGTACTTCCTGGCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTTCCTGGCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 311 SPF ACAGTACTACCACCTGTGAG		AC	340	036F			GAAT		
037		AT	302	1	AGTCCATAAGCCCACCTCT				
040 AG 347 040F TTCCAT 040R GGT SPF 048F CAGTGGAACCCACTCATC SPF GGGTGGAAGGACACT 048 AC 295 SPF CAGTGGAACCCACTCATC SPF GGGTGGAAGGACACT 049 AC 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGCCTTCTG SPF GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTTCGGGT SPF CCAAGACAGGCCTTCTG SPF GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTTCGGGT SPF CCAAGACAGGCCTTCTT 060 GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF TGGCCAGGAGCTTCTC 060 GA 293 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAAGGACTAACCA 064 TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTTCTGGCC SPF GGGGGACTTTGGGAAGCC SPF GT 328 SPF ACAGTACACACCTGGAG SPF CT		AI	302						
040 040F HICCAI 040F GGI SPF GT 295 SPF CAGTGGAACCCACTCATC SPF GGGTGGGAAGGACACT 048 AC 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGGCTTAG SPF GA 320 SPF CACACTCTCTCTTTCGGGT SPF ACTAGACAGGCCTTCTG SPF GA 320 SPF CCTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF CCAAGACAGGCCTTCTG SPF GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF TG 342 SPF CTTTAGCTTCATGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF TG 342 SPF CTTTGCTTTTACATCC SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTACCACTTGTGGCC SPF GGGGACTTTGGATGAGCA SPF GT 328 SPF GGGAGAGAGGGGAGGTA SPF		٨G	3/17	1			TCTGGGAACTAAGCCCT		
048 GT 295 048F CAG 048R AAAGA SPF AC 343 SPF CACCCTGAGGTGCTAAAA SPF ACTGGAACAGGGCTTAG SPF GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTCGGGT SPF CCAAGACAGGCCTTCTG SPF GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTCAGGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT 060 GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF TG 342 SPF TGGCCAGCTTTGGGCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTTGCTGGCC SPF GGGGGACTTTGGGAAGGC SPF AC 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF GGGAGAGGGGAGGTA SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF GGGGAGAGGGGGAGGTA <td></td> <td>АО</td> <td>371</td> <td>-</td> <td></td> <td></td> <td></td>		АО	371	-					
048 048F CAG 048 AAAGA SPF AC 343 SPF GCACCCTGAGGTGCTAAAA SPF GTG ACTGGAACAGGGCTTAG SPF O49 AC 343 O49F GTG GC 049R GTG GTG SPF O51 GA 320 SPF GCACCTCTCTCTTTCGGGT SPF GSIR AGAT SPF AGACAGGAGCTTACT SPF AGACAGGAGCTTACT SPF O60 GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTACCA O60R CATC CATC SPF TG TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAGGACTAACCA O64R GTTGGC SPF O64 TG 342 SPF TGCTAAGTACTTGCTGGCC SPF GGGGACTTTGGGAAGGC SPF GGGGACTTTGGAGC SPF O73 AC 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGTGGCTTGAGT SPF CTTTGGTGGCTTGAGT SPF O75 GT 328 SPF GGGAGAGAGGGGAGGGTA SPF GT CTTTGGTGGCTTGAGT SPF O77 GT 292 SPF TAGGTGTCATCCCAGGCAA SPF TCCACAAATGAGAGGT SPF TCCACCAAATGAGAGT SPF O77 GT 292 SPF ACAGCACTAAGCAGAAT SPF TCCACCAGACTGTGTAG SPF TCCACCAAATGAGAGT SPF O77 GT 342 <		GT	205	1			GGGTGGGAAGGACACT		
049 AC 343 049F GC 049R GTG SPF GA 320 SPF ACCACTCTCTCTTTTCGGGT SPF CCAAGACAGGCCTTCTG SPF GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF GA 293 SPF TCA 060R CATC SPF TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTTGCTGGCC SPF GGGGGACTTTGGGAAGC SPF AC 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF ACAGCACTTACCCAGGCAA SPF		O1	G1 293						
049 GA 320 SPF OS1F ACCACTCTCTCTTTCGGGT 049R OS1R OS1R GGC 049R OS1R AGAT SPF OS1 OS1F GG 051F GG 051R AGAT SPF OS0 OS1F GG 051R AGAT AGAT SPF OS0 OS1F GGG 051R AGAT AGAT SPF OS0 OS1F GGG 051R AGAT AGAT SPF OS0 OS2		A.C.	3/13	I	CACCCTGAGGTGCTAAAA		ACTGGAACAGGGCTTAG		
O51 GA 320 051F G 051R AGAT SPF 060 GA 293 SPF 060F CTTTAGCTTCATGGCCTTG TCA SPF 060R TGAGCCAGGAGCTTTCT CATC SPF 064 TG 342 SPF 064F TGGCCCTGCTTTTACATCC AT SPF 064R TATCAAAGGACTAACCA GTTGGC SPF 069 AC 314 SPF 069F TGCTAAGTACTGCTGGCC CO SPF 069R GGGGACTTTGGGAAGGC AAT SPF 073 CA 311 SPF 073F ACAGTACACACCTGTGAG GC SPF 073R CTTTGGCTGGCTTGAGT CCT SPF 076 GT 328 SPF 076F GGGGAGAGAGGGGAGGGTA GT SPF 076F ATGGCTTGAAAGGTGAG GT SPF 077R ATGGCTTGAAAGGTGAG GT SPF 077 GT 292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA GT SPF 077R TCCACCAAATGAGAGTA GGAG SPF 080 TG 342 SPF 077F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCCT SPF 080R CAAGCCAGACTGTAG CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F AGGTTTCTTAGCATTTCTC 030R SPF 084R TG CAGGT SPF 085 AGGCTTCAGCAGTATTGGTG 030R		AC	AC 343				GTG		
SPF GA 293 SPF CTTTAGCTTCATGGCCTTG SPF TGAGCCAGGAGCTTTCT SPF GA 293 060F TCA 060R CATC SPF TG 342 SPF TGGCCCTGCTTTTACATCC SPF TATCAAAGGACTAACCA SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTTGCTGGCC SPF GGGGGACTTTGGGAAGGC SPF CA 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF CA 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF GGGGAGAGAGGGAGGGTA SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF GGGGAGAGAGGGAGGGTA SPF ATGGCTTGAAAGGTGAG SPF GT 328 SPF TAGGTGTCATCCCAGGCAA SPF TCCACCAAATGAGAGGT SPF TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT SPF CAAGCCAGACTGTAG SPF AC 272 SPF ACAGGACTGTAGAGTATTGT <td></td> <td>GA</td> <td>320</td> <td>SPF</td> <td>ACCACTCTCTCTTTCGGGT</td> <td></td> <td>CCAAGACAGGCCTTCTG</td>		GA	320	SPF	ACCACTCTCTCTTTCGGGT		CCAAGACAGGCCTTCTG		
060 GA 293 060F TCA 060R CATC SPF 064 TG 342 SPF 064F TGGCCCTGCTTTTACATCC AT SPF 064R TATCAAAGGACTAACCA GTTGGC SPF 069 AC 314 SPF 069F TGCTAAGTACTTGCTGGCC C 069R SPF AAT GGGGACTTTGGGAAGGC O69R AAT SPF 073 CA 311 SPF 073F ACAGTACACACCTGTGAG GC SPF 073R CTTTGCTGGCTTGAGT CCT CCT SPF 076 GT 328 SPF 076F GGGGAGAGAGGGGAGGGTA GT SPF 076R ATGGCTTGAAAGGTGAG TGGA SPF TGGA ATGGCTTGAAAGGTGAG TGGA SPF 077 GT 292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA 077R SPF 077R CCACCAAATGAGAGGT GGAG SPF TCCACCAAATGAGAGGT GGAG SPF 080 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT 080F SPF 080R CCA CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F ACGGCTGGTGGAGCATGTATG 084R SPF 084R CAGT CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC 084R SPF 030R TTA		UA	320		Ü				
Obo CATC Obor ICA Obor CATC SPF 064 TG 342 Obor AT Obor TATCAAAGGACTAACCA SPF 069 AC 314 SPF 069F TGCTAAGTACTTGCTGGCC C SPF 069R GGGGACTTTGGGAAGGC AAT SPF 073 CA 311 SPF 073F ACAGTACACACCTGTGAG GT SPF 073R CTTTGGCTGGCTTGAGT CTTTGGCTGGCTTGAGT OTGR CCT SPF 076 GT 328 SPF 076F GGGAGAGAGGGGAGGGTA GT SPF 076R ATGGCTTGAAAGGTGAG TGGA TGGA SPF 077 GT 292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA CCT SPF 077R TCCACCAAATGAGAGGT GGAG SPF 080 TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT O80F SPF CCCT CAAGCCAGACTGTAGG O80R CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F AGGCTGGTGGAGCATGTATG O30F SPF CCTC TGGACCTCGTTACTTTG O30R TTA SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTATGCATTTCTC O30R SPF CCGCACAGAAGC		CA	203	1					
064 IG 342 064F AT 064R GTTGGC SPF 069 AC 314 SPF 069F TGCTAAGTACTTGCTGGCC C SPF 069R GGGGACTTTGGGAAGGC AAT SPF 073 CA 311 SPF 073F ACAGTACACACCTGTGAG GC SPF 073R CTTTGGCTGGCTTGAGT CCT SPF 076 GT 328 SPF 076F GGGAGAGAGAGGGAGGGTA GT 077F SPF 077F ATGGCTTGAAAGGTGAG TGGA SPF 080 TG 3292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA COT7F SPF CO TCCACCAAATGAGAGGT O77R TGGAG SPF 080 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCT SPF 080R CAAGCCAGACTGTAG CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG TC SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CCAGCACAGAAGCTTTCT CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGCCTTCAGCTATTGGTG AC SPF 082R GGTCACCCCACTGCTAA GAG SPF 072 ATA ATA 271 SPF 072F ACTGGCTAACAGTACGC AC 072F <td></td> <td>UA</td> <td>293</td> <td>060F</td> <td>TCA</td> <td>060R</td> <td>CATC</td>		UA	293	060F	TCA	060R	CATC		
O64 O64F AI O64F AI O64F GITGGC SPF AC 314 SPF TGCTAAGTACTTGCTGGCC SPF GGGGACTTTGGGAAGGC SPF CA 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF CA 311 O73F GC 073R CCT SPF GT 328 O76F GT O76R TGGA SPF GT 292 SPF TAGGTGTCATCCCAGGCAA SPF TCCACCAAATGAGAGGT SPF TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT SPF CAAGCCAGACTGTAG SPF TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT SPF CAAGCCAGACTGTAG SPF AC 272 SPF GGCTGGTGGAGCATGTATG SPF TGGACCTCGTTACTTTG SPF AC 272 SPF AGGTTTCTTATGCATTTCTC SPF CCGCACAGAAGCTTTGC SPF GC 381 SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF GGTCACCCCACTGCTAA <td>SPF</td> <td>TG</td> <td>3/12</td> <td>SPF</td> <td>TGGCCCTGCTTTTACATCC</td> <td>SPF</td> <td>TATCAAAGGACTAACCA</td>	SPF	TG	3/12	SPF	TGGCCCTGCTTTTACATCC	SPF	TATCAAAGGACTAACCA		
069 AC 314 069F C 069R AAT SPF 073 CA 311 SPF 073F ACAGTACACACCTGTGAG GC SPF 073R CCTTTGGCTGGCTTGAGT CCT SPF 076 GT 328 SPF 076F GGGAGAGAGGGGAGGGTA GT SPF 076R ATGGCTTGAAAGGTGAG TGGA SPF 077 GT 292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA CC SPF 077R GGAG SPF 080 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCCT SPF 080R CAA CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG 084F SPF TGGACCTCGTTACTTTG 084R CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC 030R SPF CCTC CCGCACAGAAGCTTTGC 030R TTA SPF 072 ATA 271 SPF 072F AGGCCTTCAGCTATTGGTG 072F SPF AC GCCTTTAGAGGGAATGT 072R SPF GCCAGGAGTGGAGCTGA 072R SPF GCCTTTAGAGGGAATGT 072R GGC SPF 078 AGA 335 SPF 078F ACTGGCTAACAGTACGC 078R SPF TTT GGGTGGCTATGGGCAAG 078R SPF TTT		10	342	064F			GTTGGC		
SPF CA 311 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF ACAGTACACACCTGTGAG SPF CTTTGGCTGGCTTGAGT SPF GT 328 SPF GGGAGAGAGGGGAGGGTA SPF ATGGCTTGAAAGGTGAG SPF GT 292 SPF TAGGTGTCATCCCAGGCAA SPF TCCACCAAATGAGAGGT SPF TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT SPF CAAGCCAGACTGTAG SPF TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT SPF CAAGCCAGACTGTAG SPF AC 272 SPF GGCTGGTGGAGCATGTATG SPF TGGACCTCGTTACTTTG SPF AC 272 SPF AGGTTTCTTATGCATTTCTC SPF TGGACCTCGTTACTTTG SPF GC 381 SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF CCGCACAGAAGCTTTAC SPF GC 381 SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF GGCCTTTAGAGGGAATGT SPF ATA 271 SPF		A.C.	214	I	TGCTAAGTACTTGCTGGCC				
073 CA 311 073F GC 073R CCT SPF 076 GT 328 SPF 076F GGGAGAGAGAGGGGAGGGTA GT SPF 076R ATGGCTTGAAAGGTGAG TGA SPF 077 GT 292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA CCCA SPF 077R TCCACCAAATGAGAGGT GGAG SPF 080 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCCT SPF 080R CAAGCCAGACTGTAG CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG 084F SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CAAGCCAGAACTTTTGC SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC 030R SPF 030R CCGCACAGAAGCTTTGC 030R TTA SPF 030 TG 381 SPF 030F AGGCCTTCAGCTATTGGTG 082F SPF 082R GGTCACCCCACTGCTAA GGC SPF 072 ATA 271 SPF 072F AC 072R GCCTTTAGAGGGAATGT GGC SPF 078 AGA 078F ACTGGCTAACAGTACGGC 078R SPF 078F GGGTGGCTATGGGCAAG TTT SPF 078 ATA 292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF C		AC	314	069F	С				
673 673 674 675 675 676 677 <td></td> <td>C_{Λ}</td> <td>211</td> <td>1</td> <td>ACAGTACACACCTGTGAG</td> <td></td> <td>CTTTGGCTGGCTTGAGT</td>		C_{Λ}	211	1	ACAGTACACACCTGTGAG		CTTTGGCTGGCTTGAGT		
076 G1 328 076F GT 076R TGGA SPF 077 GT 292 SPF 077F TAGGTGTCATCCCAGGCAA C SPF 077R TCCACCAAATGAGAGGT GGAG SPF 080 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCCT SPF 080R CCAAGCCAGACTGTAG CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG TT SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC CCTC SPF 030R CCGCACAGAAGCTTTGC TAA SPF 082 A 381 SPF 082F AGGCCTTCAGCTATTGGTG OR2R SPF GGTCACCCCACTGCTAA GGC SPF 072 ATA 271 SPF 072F GCCAGGAGTGGAGACTGA AC SPF 072R GCCTTTAGAGGGAATGT GCC SPF 078 ACTGGCTAACAGTACGGC O78R SPF TTT GGGTGGCTATGGGCAAG TTT SPF 078 ACTGGCTAACAGTACGACACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		CA	CA 311						
076 GT 076F GT 076F GT 1076F GT 1077F GT 1077F CCAAGCCAAATGAGAGT SPF TCCACCAAATGAGAGGT GGAG SPF 080 TG 342 SPF ACAGCACTTAAGCAGAAT SPF CAAGCCAGACTGTAGG ACAGCCAGTAGTAGG SPF CAAGCCAGACTGTAGG CCA CCA SPF TGGACCTCGTTACTTTTG SPF TGGACCTCGTTACTTTTG SPF TGGACCTCGTTACTTTTG SPF TGGACCTCGTTACTTTTG SPF CAGGT CAGT CAGT SPF CCGCACAGAAGCTTTGC SPF CCGCACAGAAGCTTTGC CCTC 030R TTA TTA SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF GGTCACCCCACTGCTAA ACGAGAGGGAATGT O82R GGTCACCCCACTGCTAA GAG GCCTTTAGAGGGAATGT SPF GCCTTTAGAGGGAATGT ACGACTTAGAGGAGCTGA SPF GCCTTTAGAGGGAATGT SPF GCCTTTAGAGGCAAG SPF GGGTGGCTATGGGCAAG		GT	220	1	GGGAGAGAGGGGAGGGTA		ATGGCTTGAAAGGTGAG		
077 G1 292 077F C 077R GGAG SPF 080 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCCT SPF 080R CAAGCCAGACTGTAG CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG T SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC CCTC SPF 030R CCGCACAGAAGCTTTGC O30R TTA SPF 082 A SPF 082F AGGCCTTCAGCTATTGGTG O82R SPF GGTCACCCCACTGCTAA GAG SPF 072 ATA 271 SPF 072F GCCAGGAGTGGAGACTGA AC SPF 072R GCCTTTAGAGGGAATGT GGC SPF 078 ACTGGCTAACAGTACGGC 078 SPF GGGTGGCTATGGGCAAG TTT TTT SPF 078 ATA 335 SPF 078F ACTGGCTAACAGTACGGC AC SPF 078R GGGTGGCTATGGGCAAG TTT SPF 078 ATA 3292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		O1	GT 328						
O7/7 TG 342 SPF 080F ACAGCACTTAAGCAGAAT CCT SPF 080R CAAGCCAGACTGTGTAG 080R CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG O84R SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CAGTT SPF 084 AC 272 SPF 084F AGGTTTCTTATGCATTTCTC O84R SPF 084R CCGCACAGAAGCTTTGC CAGTT SPF 030 330 SPF 030F AGGCCTTCAGCTATTGGTG O30R SPF 030R TTA SPF 082 A 381 SPF 082F AGGCCTTCAGCTATTGGTG O82R SPF 082R GAG SPF 072 ATA 072 SPF 072F ACCAGGAGTGGAGACTGA O72R SPF 072R GCCTTTAGAGGGGAATGT O72R SPF 078 AGA 072R ACTGGCTAACAGTACGGC O78R SPF 078F ACTGGCTAACAGTACGGC O78R SPF 078F TTT SPF 078 ACTGGCTAACAGCACACACACACACACACACACACACACA		GT	202	I	TAGGTGTCATCCCAGGCAA		TCCACCAAATGAGAGGT		
080 IG 342 080F CCCT 080R CCA SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG T SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC CCTC SPF 030R CCGCACAGAAGCTTTGC TTA SPF 082 GC 381 SPF 082F AGGCCTTCAGCTATTGGTG CC SPF 082R GGTCACCCCACTGCTAA GAG SPF 072 ATA 271 SPF 072F GCCAGGAGTGGAGACTGA AC SPF 072R GCCTTTAGAGGGAATGT GGC SPF 072 AGA 072 SPF 072F ACTGGCTAACAGTACGGC AC SPF 078R GGGTGGCTATGGGCAAG TTT SPF SPF 078 ATA 078F SPF ACTGCCAACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		O1	272		-				
SPF 084 AC 272 SPF 084F GGCTGGTGGAGCATGTATG TT 084R SPF 084R TGGACCTCGTTACTTTG CAGT SPF 084 TG 084F T 084R CAGT SPF 084 TG 330 SPF AGGTTTCTTATGCATTTCTC CAGT SPF CCGCACAGAAGCTTTGC OAGCT CCTC 030R TTA SPF 082 A 381 SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF GGTCACCCCACTGCTAA OAGCT SPF GAGA OACCT GAG SPF 072 ATA 271 SPF GCCAGGAGTGGAGACTGA ACCTGA ACCTGC SPF GGCTTATGGGCAAG OACCTC SPF GGCTTTAGAGGGCAAG OACCTCA SPF GGGTGGCTATGGGCAAG OACCTCA SPF 078 T ACTGGCTAACAGTACGGC SPF GGGTGGCTATGGGCAAG OACCTCA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA SPF 078 ATA SPF ATA SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		TG		-	3/12	1			
084 AC 272 084F T 084R CAGT SPF 030 TG 330 SPF 030F AGGTTTCTTATGCATTTCTC CCTC SPF 030R CCGCACAGAAGCTTTGC TTA SPF 082 GC A 381 SPF 082F AGGCCTTCAGCTATTGGTG C SPF 082R GGTCACCCCACTGCTAA GAG SPF 072 ATA 271 SPF 072F GCCAGGAGTGGAGACTGA AC SPF 072R GCCTTTAGAGGGAATGT GGC SPF 078 AGA 078 T GGC GGC SPF 078 ACTGGCTAACAGTACGGC AC SPF 078R GGGTGGCTATGGGCAAG TTT SPF 078 ATA 292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		10	372						
SPF (030) TG 330 SPF (030) AGGTTTCTTATGCATTTCTC (CTC) SPF (CTC) CCGCACAGAAGCTTTGC (CTC) SPF (030) GC 381 SPF (030) AGGCCTTCAGCTATTGGTG (CTC) SPF (030) GGTCACCCCACTGCTAA (CTC) SPF (082) A (082) C (082) GGTCACCCCACTGCTAA (CTC) GAG (CTC) SPF (072) ATA (072) SPF (072) GCCAGGAGTGGAGACTGA (CTC) SPF (CTC) GGC (CTC) SPF (072) AGA (072) SPF (072) ACTGGCTAACAGTACGGC (CTC) SPF (072) GGGTGGCTATGGGCAAG (CTC) SPF (078) ATA (078) ACTTTT SPF (078) GGTTCACCCCACTGCTAACAGTACGGC (CTC) SPF (072) AGA (072) SPF (072) ACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT		A.C.	272	1	GGCTGGTGGAGCATGTATG				
030 IG 330 030F CCTC 030R TTA SPF GC 381 SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF GGTCACCCCACTGCTAA 082 A 082F C 082R GAG SPF ATA 271 SPF GCCAGGAGTGGAGACTGA SPF GCCTTTAGAGGGAATGT 072 AGA 072F AC 072R GGC SPF AGA 335 SPF ACTGGCTAACAGTACGGC SPF GGGTGGCTATGGGCAAG 078 T 335 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		AC	AC 2/2				-		
SPF GC 381 SPF AGGCCTTCAGCTATTGGTG SPF GGTCACCCCACTGCTAA 082 A 082F C 082R GAG SPF ATA 271 SPF GCCAGGAGTGGAGACTGA SPF GCCTTTAGAGGGAATGT 072 ATA 271 072F AC 072R GGC SPF AGA 335 SPF ACTGGCTAACAGTACGGC SPF GGGTGGCTATGGGCAAG 078 T AC 078R TTT SPF ATA 292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA		TG	TG 330		TG 220	1			
082 A 381 082F C 082R GAG SPF ATA 271 SPF GCCAGGAGTGGAGACTGA SPF GCCTTTAGAGGGAATGT 072 ATA 271 072F AC 072R GGC SPF AGA 335 SPF ACTGGCTAACAGTACGGC SPF GGGTGGCTATGGGCAAG 078 T AC 078R TTT SPF ATA 292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA			330						
O82A082FC082RGAGSPF 072ATA 072F271SPF 072FGCCAGGAGTGGAGACTGA ACSPF 072RGCCTTTAGAGGGAATGT GGCSPF 078AGA T335SPF 078FACTGGCTAACAGTACGGC ACSPF 078RGGGTGGCTATGGGCAAG TTTSPFATA 292SPFAGGACTGTGACAACCACASPFCTTCCAACAAGGCCTCA		GC	381	I	AGGCCTTCAGCTATTGGTG				
072ATA271072FAC072RGGCSPFAGA 078335SPFACTGGCTAACAGTACGGC ACSPFGGGTGGCTATGGGCAAG TTTSPFATA 292SPFAGGACTGTGACAACCACA SPFSPFCTTCCAACAAGGCCTCA		A	301						
O/2 O/2F AC O/2R GGC		$\begin{vmatrix} \Delta T \Delta & 271 \end{vmatrix}$		1	GCCAGGAGTGGAGACTGA				
078 T 335 078F AC 078R TTT SPF ATA 292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA									
O/8 I O/8F AC O/8R III O/8F SPF ATA 292 SPF AGGACTGTGACAACCACA SPF CTTCCAACAAGGCCTCA					ACTGGCTAACAGTACGGC				
		1							
092 A 272 092F AGG 092R CCT		1 292		1	AGGACTGTGACAACCACA				
	092			092F	AGG	092R	CCT		

注: * 上游引物 5'端加 FAM 荧光基团。





A.5 PCR 扩增

A.5.1 PCR 扩增体系

PCR 总反应体积为 20 μL,其中含 2×PCR Mix: 2 μL,上下游引物(100 pmol/μL)各 1 μL,基因组 DNA: 1 μL,纯水(ddH2O): 7 μL。PCR 反应程序为: 95 ℃预变性,5 min; 95 ℃变性,30 s; 退火温度 60 ℃,30 s; 72 ℃延伸,45 s; 30 个循环; 72 ℃继续延伸 7 min; 扩增产物铝箔纸包好 4 ℃保存。

A.5.2 PCR 产物的检测

5 μL PCR 产物, 经 2.0%的琼脂糖凝胶电泳以及凝胶成像系统拍照检测扩增结果。

A.5.3 扩增产物 STR 扫描

剩余 PCR 产物进行 STR 扫描。

A.6 STR 结果的判读与统计分析

对原始峰图进行分析,确定特定位点每个个体的峰形和大小,判定个体的基因型。

A.7 结果判定

近交系棉鼠采用 STR 分子标记位点特征进行评价,当品系内所有遗传检测个体的 STR 位点标准参考位点完全一致时,该群体未发生遗传变异,遗传质量合格;当有1个位点的分子与标准参考位点不一致时,增加检测位点数目和增加检测方法后复检,当只有1个标记基因改变且检测个体均一致时,可命名为同源突变系;2个或2个以上位点的标记基因与标准参考位点不一致或为多态/杂合时,判为不合格。

A.8 结果报告

根据判定结果对被检测近交系棉鼠出具检测报告。