



QB

斯贝福生物技术有限公司企业标准

Q/BZ 2021-0001

近交系小鼠 繁育与遗传质量控制

Inbred strain mice - Breeding and genetic quality control

2021-10-23 发布

2021-11-01 实施

斯贝福生物技术有限公司 发 布

目录

前言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 缩略语.....	1
5 命名原则	1
6 近交系的繁殖方法.....	2
7 近交系小鼠的遗传质量监测.....	2
附录 A 近交系小鼠的 SNP 遗传检测方法.....	4



Q/BZ 2021-0001

前言

为保障本公司生产和销售的近交系小鼠遗传质量，参照中国《实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制》标准，结合国内外文献和自主研发制定本标准，作为本公司规模化生产的近交系小鼠遗传标准，其中的检测技术和方法将随企业的技术进步及产品质量的提升而做相应的改进。

.....

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，谢飞，陈红，陈振文

近交系小鼠 繁育与遗传质量控制

1 范围

本标准规定近交系小鼠的遗传命名原则、繁殖方法和遗传质量标准。

本部分适用于近交系小鼠的遗传质量控制。

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 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 近交系 inbred strain

经至少连续 20 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第 20 代或以后代数的一对共同祖先。

经连续 20 代以上亲代与子代交配和全同胞兄妹交配有等同效果。

近交系的近交系数（inbreeding coefficient）应大于 99%。

3.2 近交系亚系 substrain

由同一个近交系分离出来，具有和原来近交系不相同特性且其遗传基因能被固定下来的品系。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文本。

PCR: 聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction）

SNP: 单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphism)

5 命名原则

5.1 近交系

以大写英文字母或大写英文字母加阿拉伯数字命名，符号应简短。如 BALB、C57BL 等。

5.2 亚系

亚系的命名方法是原品系名称后加一条斜线“/”再标以亚系符号。亚系符号可用数字表示，如：DBA/1；可用育成人或实验室名的缩写英文名称表示，其中第一字母要大写，如：A/He、CBA/J；可用数字加字母表示一个保持者不只有一个以上的亚系，如：C57BL/6J。

5.3 近交代数

Q/BZ 2021-0001

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 87 代时，写成 (F87)。

6 近交系的繁殖方法

选择近交系动物繁殖方法的原则，是保持近交系动物的同基因性及其基因纯合性。

6.1 引种

作为繁殖用引种的近交系动物必须遗传背景明确，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）。引种动物应来自国家实验动物种质资源中心近交系的基础群（foundation stock）。

6.2 繁殖方法

近交系动物的繁殖分为基础群（foundation stock）、血缘扩大群（pedigree expansion stock）和生产群（production stock）。当近交系动物生产供应数量不是很大的品系，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。

7 近交系小鼠的遗传质量监测

7.1 近交系小鼠的遗传质量标准

近交系动物必须符合以下要求：

7.1.1 具有明确的品系背景资料，包括品系名称、近交代数、遗传组成、主要生物学特性等，并能充分表明新培育的或引种的近交系动物符合近交系定义的规定。

7.1.2 用于近交系保种及生产的繁殖系谱及记录卡应清楚完整，繁殖方法科学合理。

7.1.3 经遗传检测（SNP 标记检测方法）质量合格。

7.2 近交系小鼠遗传质量监测方法

7.2.1 抽样

随机采取小鼠的血液、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 近交系小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%

7.2.2 检测方法

采用 SNP 遗传检测方法进行。具体方法按本标准附录 A 进行。

7.2.3 结果判定

近交系小鼠采用 SNP 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 SNP 位点基因分型均一致、且均为单态/纯合子时，该群体判为合格；当 1 个及以上位点出现基因分型不一致或为多态/杂合子时，判为不合格。

7.2.4 不合格群体处理方法

发现不合格动物后要淘汰，并追溯其亲代实施遗传检测，如亲代亦存在遗传突变，淘汰其所有后代动物。

7.2.6 检测频率



Q/BZ 2021-0001

近交系每年至少进行一次遗传质量检测。

7.2.7 出具报告

依据检测结果，出具检测报告。

附录 A (规范性) 近交系小鼠的 SNP 遗传检测方法

A.1 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.2 基因组 DNA 的提取

取动物任意组织0.1 g或约2 mm鼠尾，用酚-氯仿萃取法或试剂盒提取基因组DNA。

A.3 SNP 位点

选择位于小鼠19对常染色体和X染色体上的30个位点，作为遗传检测的SNP标记。

SNP分子标记的名称及SNP基因分型见表A1。

表 A1 近交系小鼠 SNP 遗传检测位点信息

位点编号	染色体位置	基因分型	上游引物序列	下游引物序列
L1	1	T/C	5'-CAGTATTAGCCGACTCCCTT-3'	5'-TTCTACCCAGCCCTCTTTT-3'
L2	1	C/T	5'-CATCCTTGCCGTGCACATTC-3'	5'-GCCTTTCTCCAGGTCTTCC-3'
L3	1	T/A	5'-AGGCTGTTGCCATATGTGAGT-3'	5'-CACTCCCAGGGCTTCCTTAAA-3'
L4	2	A/C	5'-CACTTCCGGTGACTTTGGGA-3'	5'-TCACCTAACCCAGGCTGACT-3'
L5	3	C/T	5'-CACCCAACACCCACAGAGTA-3'	5'-TGTCTTTTCAAAGGGCCAGA-3'
L6	4	A/C	5'-TCATCCTTGAACACCTC-3'	5'-CCATAAAGCCATTGACTAACAT-3'
L7	4	C/T	5'-CCTCGGGACATATGAGAGGA-3'	5'-CAAGGAGTCCCTTGCTCAACT-3'
L8	5	G/T	5'-CCCTGACAAGCTTTTACCCCA-3'	5'-GGGTTATCCGAAAGGACCCA-3'
L9	5	T/C	5'-CAGCCATACCACTCTGCTCC-3'	5'-ACCAAGCACAGAACGCTGTA-3'
L10	6	C/T	5'-TCCCTTTCATGTGCCTTAC-3'	5'-GCAGTGCCATTTCACTCTC-3'
L11	6	G/T	5'-CCAGGCCAGACTTGTGAGAG-3'	5'-TGCATAGGCTCCTTCACTATCC-3'
L12	7	A/T	5'-CTTCAGGCCCTTACGAGTA-3'	5'-GATTCTATTGGCTGGCTTG-3'
L13	8	G/A	5'-TAAATGGCCGAATTCACAT-3'	5'-TGTGCACCTTCCTTTGTTCA-3'
L14	8	C/A	5'-CCACATGCAGGATTTCCAC-3'	5'-ACAGCATGAATGTAAAGGGCG-3'
L15	9	A/G	5'-GTACCCCGGAGCTCTTGTCT-3'	5'-TGGAGACACCAAGGTTGAGTT-3'
L16	10	C/A	5'-ACCCAGATAACCCACTTCCG-3'	5'-CACAACAGCACCCAGACCTA-3'
L17	10	C/G	5'-AGACCTGTGCATGCTACCAA-3'	5'-AGGGCCTTTGAAGGTTGTCA-3'
L18	11	T/C	5'-GGCACTGGGGATCAGTACTTT-3'	5'-CCCTAGCTCTGGCTGGCCTA-3'
L19	12	A/G	5'-AATGCGAAGCTGACCAATGC-3'	5'-GGCAAAGGCAAGTCTCAAGC-3'
L20	13	C/T	5'-ATGGAGCCTGGAAATGGAC-3'	5'-TTGGCAGAGGAATGAAGAG-3'
L21	13	G/C	5'-GCATCAATAGCACCTGGAC-3'	5'-CTGATGGCTAAAAGATTCTCCAGT-3'
L22	13	G/A	5'-TGGGCAAACCTCAGCCATTC-3'	5'-AGAGACCCTTCTGATCCTCCG-3'
L23	13	G/A	5'-CCCTGAACATAGGTGAACAA-3'	5'-ACAGGAACCAAGACGGACTA-3'
L24	14	T/G	5'-ACGAGGGTCTCACACTTCCT-3'	5'-GCTGTTCCCTCAAGCCGTTA-3'
L25	15	G/A	5'-CAACCCAGGCAGGGAATAA-3'	5'-TGCAACAGGTCACCCATACC-3'
L26	16	T/A	5'-CTGCTTCCCTGTGAATCCGT-3'	5'-AGGCCTAGACTATTAGGGGCA-3'

L27	17	T/C	5'-TCGTTGGCACCCTCAAACAT-3'	5'-CTGCCTGCATCCCCTAACTC-3'
L28	18	G/A	5'-GAAGTTCCTTTGTGCACCCG-3'	5'-GGTCAGGGTGGATGATGTCC-3'
L29	19	G/A	5'-TCCACCATACCCTGCATCTG-3'	5'-CAGCACTTTCCACAGTTGGG-3'
L30	X	C/T	5'-CCCTAGGGCAACATGGTAAA-3'	5'-CATTCCGTGCAAATGAGATG-3'

A.4 PCR 扩增

A.4.1 PCR 扩增的体系

PCR 总反应体积为 20 μL ，其中含 2 $\times$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 预变性，5 min；95 $^{\circ}\text{C}$ 变性，30 s；退火温度 60 $^{\circ}\text{C}$ ，30 s；72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸，45 s；30 个循环；72 $^{\circ}\text{C}$ 继续延伸 7 min；扩增产物 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

A.4.2 PCR 产物的检测

5 μL PCR 产物，经 1% 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.4.3 扩增产物测序

剩余 PCR 产物进行 Sanger 测序或 TA 克隆测序；若采用 TA 克隆测序，则使用 50 μL 的扩增体系进行 PCR 产物胶回收。

A.5 SNP 结果的判读与统计分析

用 SnapGene 软件读取和比对位点的测序峰图，扫描结果可出现两种波形：一种为纯合基因型，只有一个主波；另一种为杂合基因型，有两个主波，以 AA、BB 和 AB 等形式记录每一个样本每一个位点的 SNP 基因型。

A.6 结果判定

近交系小鼠采用 SNP 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 SNP 位点基因分型均一致、且均为单态/纯合子时，该群体判为合格；当 1 个及以上位点出现基因分型不一致或多态/杂合子时，判为不合格。

A.7 结果报告

根据判定结果对被检测近交系小鼠群体出具检测报告。