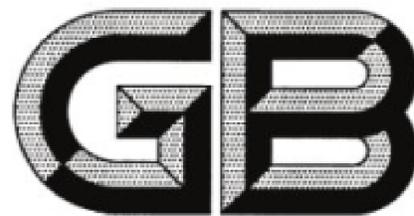


ICS 65.020.30
CCS B 44



中华人民共和国国家标准

GB 14923—2022

代替 GB 14923—2010

实验动物 遗传质量控制

Laboratory animal—Genetic quality control

2022-12-29 发布

2023-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

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。

本文件代替 GB 14923—2010《实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制》，与 GB 14923—2010 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 更改了术语“远交群”和“封闭群”的定义(见 3.12、3.13,2010 年版的 2.12)；
- b) 增加了应用 CRISPR/Cas9 等技术制备基因修饰动物的命名(见 4.2.1.11)；
- c) 增加了微卫星和 SNP 座位检测法(见 6.2.3)。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 1994 年首次发布为 GB 14923—1994,2010 年第一次修订；
- 本次是第二次修订。

实验动物 遗传质量控制

1 范围

本文件给出了实验动物的遗传分类及命名、繁殖方法,以及近交系、远交群、杂交群动物的遗传质量监测。

本文件适用于实验动物的遗传质量控制。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

近交系 **inbred strain**

一个动物群体中,任何个体基因组中 98.6% 以上的座位为纯合的品系。

注:经典近交系经至少连续 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 代以上亲子交配与全同胞兄妹交配有等同效果。近交系的近交系数 (inbreeding coefficient) 大于 98.6%。

3.2

亚系 **substrain**

近交系内各个分支。

注:各个分支的动物之间,因遗传分化而产生差异。

3.3

重组近交系 **recombinant inbred strain; RI**

由两个近交系杂交后,经连续 20 代以上兄妹交配育成的近交系。

3.4

重组同类系 **recombinant congenic strain; RC**

由两个近交系杂交后,子代与两个亲代近交系中的一个进行数次回交(通常回交 2 次),再经不对特殊基因选择的连续兄妹交配(通常大于 14 代)而育成的近交系。

3.5

同源突变近交系 **coisogenic inbred strain**

除了某一个特定座位等位基因不同外,其他遗传基因全部相同的两个近交系。

注:一般由近交系发生基因突变或者人工诱变(如基因剔除)形成。用近交代数表示出现突变的代数,如 F110+F23,表示近交系在 110 代出现突变后再近交 23 代。

3.6

同源导入近交系 **congenic strain**

同类系

从供体品系中选择一个特定标记,通过回交方式形成的一个与原近交系只在一个很小染色体片段

上有所不同的近交系。

注：随机挑选后代至少回交 10 个世代，供体品系的基因组占基因组总量在 1% 以下。

3.7

染色体置换系 consomic strains or chromosome substitution strains

为把某一染色体全部导入到近交系中，反复进行回交而育成的近交系。

注：与同类系相同，将 F1 作为第 1 个世代，要求至少回交 10 个世代。

3.8

核转移系 conplastic strains

将某个品系的核基因组移到其他品系细胞质后培育的品系。

3.9

混合近交系 mixed inbred strains

由最多 3 个亲本品系(其中一个是重组基因的 ES 细胞株)混合制作的近交系。

3.10

互交系 advanced intercross lines

两个近交系间繁殖到 F2，采取非兄妹交配的互交方式所得到的多个近交系。

注：由于其相近基因座位间的重组率较高而被应用于突变基因的精细定位分析。

3.11

基因修饰动物 genetic modified animals

用基因修饰等技术手段对特定基因改造所获得的动物。

注：包括转基因动物、基因定位突变动物等。

3.12

远交群 outbred stock

为了维持群体的最大杂合度、以非近亲交配方式进行繁殖生产的实验动物种群。

3.13

封闭群 closed colony

不引进外部动物、在群体内随机选择种动物进行繁殖，以维持有限杂合度的实验动物种群。

3.14

杂交群 hybrids

由两个不同近交系杂交产生的后代群体。

注：子一代简称 F1。

4 实验动物的遗传分类及命名

4.1 遗传分类

根据遗传特点的不同，实验动物分为近交系、远交群(封闭群)和杂交群。

4.2 命名

4.2.1 近交系

4.2.1.1 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 A 系、TA1 系等。

4.2.1.2 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 87 代时,写成 (F87)。如果对以前的代数不清楚,仅知道近期的近交代数为 25,可以表示为(F? +25)。

4.2.1.3 亚系的命名

亚系的命名方法是在原品系的名称后加一道斜线,斜线后标明亚系的符号。

亚系的符号可以是以下几种。

- a) 培育或产生亚系的单位或个人的缩写英文名称,第一个字母用大写,以后的字母用小写。使用缩写英文名称应注意不要和已公布过的名称重复。
- b) 当保持者保持的某个近交系具有两个以上亚系时,可在数字后再加保持者的缩写英文名称来表示亚系。
- c) 一个亚系在其他机构保种,形成了新的群体,在原亚系后加注机构缩写。
- d) 一些建立及命名较早,并为人们所熟知的近交系,亚系名称可用小写英文字母表示。

示例: BALB/c、C57BR/cd 等,作为以上命名方法的例外情况。

4.2.1.4 重组近交系和重组同类系命名

4.2.1.4.1 重组近交系的命名

在两个亲代近交系的缩写名称中间加大写英文字母 X 命名。相同双亲交配育成的一组近交系用阿拉伯数字予以区分,雌性亲代在前,雄性亲代在后。

示例:由 BALB/c 与 C57BL 两个近交系杂交育成的一组重组近交系,分别命名为 CXB1、CXB2...

如果雄性亲代缩写为数字,如 CX8,为区分重组近交组,则用连接符表示为 CX8-1、CX8-2...

4.2.1.4.2 重组同类系的命名

在两个亲代近交系的缩写名称中间加小写英文字母 c 命名,用其中做回交的亲代近交系(称受体近交系)在前,供体近交系在后。相同双亲育成的一组重组同类系用阿拉伯数字予以区分。

示例: CcS1 表示以 BALB/c(C)为亲代受体近交系,以 STS(S)品系为供体近交系,经 2 代回交育成的编号为 1 的重组同类系。

如果雄性亲代缩写为数字,如 Cc8,为区分不同重组同类组,则用连接符表示为 Cc8-1。

4.2.1.5 同源突变近交系的命名

在发生突变的近交系名称后加突变基因符号(用英文斜体)组成,二者之间以连接号分开。

当突变基因必须以杂合子形式保持时,用“+”号代表野生型基因。

示例 1: DBA/Ha-D, 表示 DBA/Ha 品系突变基因为 D 的同源突变近交系。

示例 2: 129S7/SvEvBrd-Fyn^{tm15sr} 表示用来源 129S7/SvEvBrd 品系的 AB1 ES 细胞株制作的 Fyn 基因变异的同源突变系。

示例 3: A/Fa-+/c。

4.2.1.6 同源导入近交系(同类系)的命名

由以下几部分组成:

- a) 接受导入基因(或基因组片段)的近交系名称;
- b) 提供导入基因(或基因组片段)的近交系的缩写名称,并与 a 之间用英文句号分开;
- c) 导入基因(或基因组片段)的符号(用英文斜体),与 b 之间以连字符分开;

d) 经第三个品系导入基因(或基因组片段)时,用括号表示;

e) 当染色体片段导入多个基因(或基因组片段)或座位,在括号内用最近和最远的标记表示出来。

示例 1: B10.129-*H-12b* 表示该同源导入近交系的遗传背景为 C57BL/10sn(即 B10),导入 B10 的基因为 *H-12b*,基因提供者 129/J 近交系。

示例 2: C.129P(B6)-*Il2tm1Hor* 为经过第三个品系 B6 导入的。

示例 3: B6.Cg-(*D4Mit25-D4Mit80*)/Lt 导入的片段标记为 *D4Mit25-D4Mit80*。

4.2.1.7 染色体置换系的命名

表示方法为 HOST STRAIN-Chr #^{DONOR STRAIN},如 C57BL/6J-Chr 19^{SPR} 为 *M. spretus* 的第 19 染色体回交于 B6 的染色体置换系。

4.2.1.8 核转移系的命名

命名方法为 NUCLEAR GENOME-mt^{CYTOPLASMIC GENOME},如: C57BL/6J-mt^{BALB/c} 指带有 C57BL/6J 核基因组和 BALB/c 细胞质的品系。这样的品系是以雄的 C57BL/6J 小鼠和雌的 BALB/c 小鼠交配,子代雌鼠与 C57BL/6J 雄鼠反复回交 10 代而成。

4.2.1.9 混合近交系的命名

混合近交系的命名分两种情况:

a) 两个品系缩写之间用分号,如: B6;129-*Acvr2*^{tm1Zuk} 为 C57BL/6J 和敲除 *Acvr2* 基因的 129ES 细胞株制作的品系;

b) 两个以上亲本品系制作的近交系,或者受不明遗传因素影响的突变系,作为混合近交系,用 STOCK 空格后加基因或染色体异常来表示,如 STOCK Rb(16.17)5Bnr 为具有 Rb(16.17)5Bnr 的、含有未知或复杂遗传背景的混合系。

4.2.1.10 互交系的命名

由实验室缩写编码:母系亲本,父系亲本—G# 表示。

4.2.1.11 基因修饰动物的命名

基因修饰动物包括转基因、基因定位突变等动物,其命名按照附录 A。

4.2.2 远交群和封闭群的命名

远交群由 2 个~4 个大写英文字母命名,种群名称前标明保持者的英文缩写名称,第一个字母需大写,后面的字母小写,一般不超过 4 个字母。保持者与种群名称之间用冒号分开。

示例 1: N:NIH,表示由缩写为 N 的机构保持的 NIH 远交群小鼠。

某些命名较早,又广为人知的远交群动物,名称与上述规则不一致时,仍可沿用其原来的名称。

示例 2: Wistar 大鼠、ddy 小鼠等。

把保持者的缩写名称放在种群名称的前面,而二者之间用冒号分开,是远交群动物与近交系命名中最显著的区别。除此之外,近交系命名中的规则及符号也适用于远交群动物的命名。

封闭群的命名组成包含了品系来源以及突变描述,再加上[cc]来表示封闭群。

示例 3: C57BL/6Tac-*Bmp4*^{tm1Bib}[cc]表示了 C57BL/6Tac 近交系来源且携带 *Bmp4*^{tm1Bib} 突变的封闭群。

4.2.3 杂交群的命名

杂交群按以下方式命名:以雌性亲代名称在前,雄性亲代名称居后,二者之间以大写英文字母“X”

相连表示杂交。将以上部分用括号括起,再在其后标明杂交的代数(如 F1、F2 等)。

对品系或种群的名称常使用通用的缩写名称。

示例:(C57BL/6 X DBA/2)F1=B6D2F1

B6D2F2 指 B6D2F1 同胞交配产生的 F2;

B6(D2AKRF1)指 B6 为雌性亲代,与(DBA/2 X AKR/J)的 F1 雄性亲代回交所得。

5 实验动物的繁殖方法

5.1 近交系动物的繁殖方法

5.1.1 原则

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。

5.1.2 引种

作为繁殖用原种的近交系动物必须遗传背景明确,来源清楚,有较完整的资料(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)。引种动物应来自近交系的基础群(foundation stock)或血缘扩大群(pedigree expansion stock)。

5.1.3 近交系动物的繁殖

分为基础群、血缘扩大群和生产群(production stock)。当近交系动物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。

5.1.4 基础群

5.1.4.1 设基础群的目的,一是保持近交系自身的传代繁衍,二是为扩大繁殖提供种用动物。

5.1.4.2 基础群严格以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。

5.1.4.3 基础群应设动物个体记录卡(包括品系名称、近交代数、动物编号、出生日期、双亲编号、离乳日期、交配日期、生育记录等)和繁殖系谱。

5.1.4.4 基础群动物不超过 5 代~7 代都应能追溯到一对共同祖先。

5.1.5 血缘扩大群

5.1.5.1 血缘扩大群的种源来自基础群。

5.1.5.2 血缘扩大群以全同胞兄妹交配方式进行繁殖。

5.1.5.3 血缘扩大群动物应设繁殖记录卡。

5.1.5.4 血缘扩大群动物繁殖 3 代后必须从基础群重新引入新的种源。

5.1.6 生产群

5.1.6.1 设生产群的目的是生产供应实验用近交系动物,生产群种源来自基础群或血缘扩大群。

5.1.6.2 生产群动物一般以随机交配方式进行繁殖。

5.1.6.3 生产群动物应设繁殖记录卡。

5.1.6.4 生产群动物随机交配繁殖代数不应超过 4 代。

5.2 远交群和封闭群动物的繁殖方法

5.2.1 原则

选择远交群动物繁殖方法的原则是尽量保持远交群的动物的基因异质性及多态性,避免近交系数

随繁殖代数增加而过快上升。

5.2.2 引种

作为繁殖用原种的远交群动物应遗传背景明确,来源清楚,有较完整的资料(包括种群名称、来源、遗传基因特点及主要生物学特性等)。

为保持远交群动物的遗传异质性及基因多态性,引种动物数量应足够多,小型啮齿类远交群动物引种数目大于或等于 25 对。

5.2.3 繁殖

为保持远交群动物的遗传基因的稳定,种群应足够大,并避免近亲交配。根据远交群的大小,选用循环交配法等方法进行繁殖。封闭群的繁殖方式同远交群。具体方法见附录 B。

5.3 杂交群的繁殖方法

将适龄的雌性亲代品系动物与另一个品系雄性亲代动物杂交,即可得到 F1 动物。雌雄亲本交配顺序不同,得到的 F1 动物也不一样。F1 动物自繁成为 F2 动物。除特殊需要外 F1 动物一般不进行繁殖。

6 近交系动物的遗传质量监测

6.1 近交系动物的遗传质量标准

近交系动物应符合以下要求:

- a) 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;
- b) 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;
- c) 经遗传检测(生化标记,免疫标记基因、DNA 多态性检测法等)质量合格。

6.2 近交系小鼠、大鼠遗传检测方法及实施

6.2.1 生化标记检测

6.2.1.1 抽样

对基础群,凡在子代留有种鼠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成年动物,雌雄各半,一般不超过 30 只。

表 1 抽样数量

单位为只

雌性种鼠数量(N)	抽样数量
≤100	6
>100	$N \times 6\%$

6.2.1.2 生化标记基因的选择及常用近交系动物的遗传概貌

近交系小鼠选择位于 10 条染色体上的 14 个生化座位,近交系大鼠选择位于 6 条染色体上的 11 个生

化座位,作为遗传检测的生化标记。以上生化标记基因的名称及常用近交系动物的遗传概貌见附录 C。

6.2.1.3 结果判断

按表 2 进行结果判定。

表 2 检测结果的判定

检测结果	判 断	处 理
与标准遗传概貌完全一致	未发现遗传变异,遗传质量合格	—
有一个座位的标记基因与标准遗传概貌不一致	可疑	增加检测座位数目和增加检测方法后重检,确实只有一个标记基因改变可命名为同源突变系
两个或两个以上座位的标记基因与标准遗传概貌不一致	不合格	淘汰,重新引种

6.2.2 免疫标记检测

6.2.2.1 皮肤移植法:每个品系随机抽取至少 10 只相同性别的成年动物,进行同系异体皮肤移植。移植全部成功者为合格,发生非手术原因引起的移植物的排斥判为不合格。

6.2.2.2 微量细胞毒法:按照 6.2.1.1 的抽样数量检测小鼠 H-2 单倍型,结果符合标准遗传概貌的为合格,否则为不合格。

6.2.3 DNA 多态性检测法

6.2.3.1 微卫星检测法:按 6.2.1.1 抽样数量和 6.2.1.3 判定原则,选择合适的微卫星座位检测动物,遗传概貌见附录 D。

6.2.3.2 SNP 检测法:按 6.2.1.1 抽样数量和 6.2.1.3 判定原则,选择合适的 SNP 座位检测动物,遗传概貌见附录 E。

6.2.4 其他方法

除以上两种方法外,还可选用其他方法进行遗传质量检测,如毛色基因测试(coat color gene testing)、下颌骨测量法(mandible measurement)、染色体标记检测(chromosome markers testing)、基因组测序法(genomic sequence)等。

6.3 其他动物遗传检测方法

其他近交系动物参照 6.2 建立遗传检测方法,小型猪的微卫星座位信息见附录 F。

6.4 检测时间间隔

近交系动物生产群每年至少进行一次遗传质量检测。

7 远交群动物的遗传质量监测

7.1 远交群动物的遗传质量标准

远交群动物应符合以下要求:

- a) 具有明确的遗传背景资料,来源清楚,有较完整的资料(包括种群名称、来源、遗传基因特点及

主要生物学特性等)；

- b) 用于保种及生产的繁殖系谱及记录卡清楚完整,繁殖方法科学合理；
- c) 封闭繁殖,保持动物的基因异质性及多态性,避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升；
- d) 经遗传检测[生化标记基因检测法,DNA 多态性检测法(DNA polymorphisms)等]基因频率稳定,下颌骨测量法(Mandible measurement)判定为相同群体。

7.2 远交群动物小鼠、大鼠遗传检测方法及实施

7.2.1 生化标记基因检测

7.2.1.1 抽样

随机抽取雌雄各 25 只以上动物进行基因型检测。

7.2.1.2 生化标记基因的选择

选择代表种群特点的生化标记基因,如小鼠选择位于 10 条染色体上的 14 个生化座位,大鼠选择位于 6 条染色体上的 11 个生化座位,作为遗传检测的生化标记。

7.2.1.3 群体评价

按照哈代-温伯格(Hardy-Weinberg)定律,无选择的随机交配群体的基因频率保持不变,处于平衡状态。根据各座位的等位基因数计算封闭群体的基因频率,进行 χ^2 检验,判定是否处于平衡状态。或者用群体内遗传变异采用平均杂合度指标进行评价,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 χ^2 检验无明显差异时,群体为合格。处于非平衡状态的群体应加强繁殖管理,避免近交。

7.2.2 微卫星和 SNP 检测法

7.2.2.1 抽样

按 6.2.1.1 数量进行抽样。

7.2.2.2 座位的选择

选择能够代表种群遗传特征的座位进行检测,见附录 D。

7.2.2.3 群体评价

按 6.2.1.3 评价。

7.2.3 其他方法

除以上方法外,还可选用其他方法进行群体遗传质量检测,如下颌骨测量法、DNA 多态性检测法以及统计学分析法等。统计项目包括生长发育、繁殖性状、血液生理和生化指标等多种参数,通过连续监测把握群体的正常范围。

7.3 他动物遗传检测方法

其他动物根据遗传特性,参照 6.2 建立遗传检测方法。小型猪和长爪沙鼠的微卫星标记基因见附录 F 和附录 G;检测数量 100 以下,不少于 15 头(只),100 以上群体不少于 30 头(只)。

7.4 检测时间间隔

远交群动物每年至少进行 1 次遗传质量检测。

7.5 封闭群动物

远交群动物的遗传质量监测方法也适用于封闭群动物。

8 杂交群动物的遗传质量监测

由于 F1 动物遗传特性均一,不进行繁殖而直接用于试验,一般不对这些动物进行遗传质量监测,需要时参照近交系的检测方法进行质量监测。

附录 A
(规范性)
基因修饰动物

A.1 分类与定义

用基因修饰等技术手段对特定基因改造所获得的动物。主要分为转基因、基因定位突变等。以小鼠为例定义如下：

示例 1:转基因小鼠(transgenic mouse)

通过原核显微注射、电转或逆转录病毒感染等方式将 DNA 片段随机整合或插入到目的小鼠的基因组中形成的小鼠。

示例 2:基因定位突变小鼠(mouse with targeted mutations)

通过同源重组或核酸酶(如 ZFN、TALEN 或 CRISPR 等)介导的对特定靶基因位点进行破坏、置换或插入外源序列而建立的小鼠。

A.2 命名

A.2.1 转基因动物命名

转基因动物的命名遵循以下原则：背景品系加连接符加转基因符号。

符号：一个转基因符号由以下三部分组成，均以罗马字体表示：

TgX (YYYYYY) # # # # # Zzz,

其中各部分符号表示含意为：

TgX = 方式(mode)

(YYYYYY) = 插入片段标示(insert designation)

= 实验室指定序号 (laboratory-assigned number)及

Zzz = 实验室注册代号(laboratory code)

以上各部分具体含意及表示如下：

a) 方式

转基因符号通常冠以 Tg 字头,代表转基因(transgene)。随后的一个字母(X)表示 DNA 插入的方式:H 代表同源重组,R 代表经过逆转录病毒载体感染的插入,N 代表非同源插入。

b) 插入片段标示

插入片段标示是由研究者确定的表明插入基因显著特征的符号。通常由放在圆括号内的字符组成;可以是字母(大写或小写),也可由字母与数字组合而成,不用斜体字,上标、下标、空格及标点等符号。研究者在确定插入标示时,应注意:

标示应简短,一般不超过 6 个字符。

如果插入序列源于已经命名的基因,在插入标示中使用基因的标准命名或缩写,但基因符号中的连字符应省去。确定插入片段指示时,使用一些标准的命名缩写,目前包括:

An	匿名序列
Ge	基因组
Im	插入突变
Nc	非编码序列
Rp	报告基因

Sn	合成序列
Et	增强子捕获装置
Pt	启动子捕获装置

插入片断标示只表示插入的序列,并不表明其插入的位置或表型。

c) 实验室指定序号及实验室注册代号

实验室指定序号是由实验室对已成功的转基因系给予的特定编号,最多不超过 5 位数字。而且,插入片断标示的字符与实验室指定序号的数字位数之和不能超过 11。

实验室注册代号是对从事转基因动物研究生产的实验室给予的特定符号。

示例:C57BL/6J-TgN(CD8Ge)23Jwg 来源于 J 实验室的 C57BL/6 品系小鼠被转入人的 CD8 基因组(Ge);转基因在 Jon W.Gordon(Jwg)实验室完成,获取于一系列显微注射后得到的序号为 23 的小鼠。TgN(GPDHIm)1Bir 是以人的甘油磷酸脱氢酶基因(GPDH)插入(C57BL/6J X SJL/J)F1 代雌鼠的受精卵中,并引起插入突变(Im),这是 Edward H.Birkenmeier (Bir) 实验室命名的第一只转基因小鼠。

根据转基因动物命名的原则,如果转基因动物的遗传背景是由不同的近交系或封闭群之间混合而成时,则以 STOCK 表示未知的背景或 2 个以上亲代品系。

转基因符号的缩写:

转基因符号可以缩写,即去掉插入片断标示部份,例如 TgN(GPDHIm)1Bir 可缩写为 TgN 1 Bir。一般第一次出现时使用全称,其后再次出现时可使用缩写名称。

A.2.2 基因定位突变动物的命名

原则:背景品系—基因名^{tm/em}[实验室序号][实验室代号],其中 tm/em 为定位突变基因,是 target mutation 的缩写,em 是 endonuclease-mediated mutation 的缩写。

示例 1:B6/N-Cttnb1^{tm1C(S45P)}/Gtp 为 C57BL/6N 小鼠背景上完成,Cttnb1 是基因名称,tm 后面的数字代表 founder 鼠的编号,(S45P)表明在 Cttnb1 基因处敲入的突变基因,Gtp 是实验室注册代码。

示例 2:NOD-Prkdc^{em26Cd52}/Gtp、NOD-Prkdc^{em26Td52}/Gtp、NOD-Prkdc^{em26Zd52}/Gtp,其中,在 NOD/ShiLtJ 背景上完成,Prkdc 是基因名称;且上角标中大写 C 代表 Cas9 方法制作,大写 T 代表 Talen 方法制作,大写 Z 代表 ZFN 方法制作,em 后面的数字代表 founder 鼠的编号,Gtp 是实验室注册代码。

此外,通常 d 代表 deletion,in 代表 insert,d 或 in 后面的数字代表敲除或者敲入片段的大小。

A.3 鉴定与质量控制

A.3.1 转基因动物

A.3.1.1 阳性动物的鉴定

通过 PCR、DNA 印迹等检测方法确认阳性基因在子代动物中整合成功。经鉴定为阳性的小鼠成为首建鼠(founder)。

A.3.1.2 建系

将首建鼠与野生型小鼠交配,检测子代中携带转基因序列的为阳性鼠,子代阳性鼠继续与野生型小鼠交配传代,转基因小鼠以杂合方式繁育保种。每一只首建鼠来源的后代作为一个系(Line),同一转基因的不同首建鼠来源的后代不相互交配。

A.3.1.3 外源基因的表达鉴定

外源基因的稳定表达是转基因成功的关键环节之一,采用 RT-PCR、Northern 杂交、Western blot 及免疫组化等方法确认外源基因的表达。明确表达的靶器官(细胞)、表达水平。

A.3.1.4 质量控制

在建系过程需要检测每代阳性鼠,确认转入基因在后代中稳定遗传。

选择纯合子或杂合子交配的方式进行繁殖,同时检测靶器官表达水平,确保转基因的稳定表达和遗传。同一个转基因系至少连续检测 3 代,确认遗传及表达的稳定性。

A.3.2 基因定位突变动物

通过分子生物学技术(Southern bolt,PCR 或测序等)检测纯合子或杂合子小鼠靶位点突变,选用纯合子或杂合子进行建系繁殖,建立突变品系。

附录 B
(资料性)
远交群的繁殖方法

B.1 基本要求

保持远交群条件,无选择,以非近亲交配方式进行繁殖,每代近交系数上升不超过百分之一。

B.2 方法的选择

远交群的种群大小、选种方法及交配方法是影响远交群的繁殖过程中近交系数上升的主要因素,应根据种群的大小,选择适宜的繁殖交配方法。具体方法如下:

- a) 当远交群中每代交配的雄种动物数目为 10 只~25 只时,一般采用最佳避免近交法,也可采用循环交配法;
- b) 当远交群中每代交配的雄种动物数目为 26 只~100 只时,一般采用循环交配法,也可采用最佳避免近交法;
- c) 当远交群中每代交配的雄种动物数目多于 100 只时,一般采用随选交配法,也可采用循环交配法。

B.3 交配方法**B.3.1 最佳避免近交法****B.3.1.1 留种**

每只雄种动物和每只雌种动物,分别从子代各留一只雄性动物和雌性动物,作为繁殖下一代的种动物。

B.3.1.2 交配

动物交配时,尽量使亲缘关系较近的动物不配对繁殖,编排方法尽量简单易行。

- a) 对某些动物品种,如小鼠,大鼠等,生殖周期较短,易于集中安排交配,可按下述方法编排配对进行繁殖:假设一个远交群有 16 对种动物,分别标以笼号 1、2、3、…、16。设 n 为繁殖代数(n 为自 1 开始的自然数)。 n 代所生动物与 $n+1$ 代交配编排见表 B.1。

表 B.1 最佳避免近交法的交配编排

$n+1$ 代笼号	雌种来自 n 代笼号	雄种来自 n 代笼号
1	1	2
2	3	4
3	5	6
:	:	:
:	:	:
8	15	16
9	2	1
10	4	3

表 B.1 最佳避免近交法的交配编排 (续)

$n+1$ 代笼号	雌种来自 n 代笼号	雄种来自 n 代笼号
:	:	:
:	:	:
16	16	15

- b) 某些动物品种如犬、猫、家兔等,生殖周期较长,难于按上述方式编排交配。只要保持种群规模不低于 10 只雄种,20 只雌种的水平,留种时每只雌、雄种各留一只子代雌、雄动物作种,交配时尽量避免近亲交配,则可以把繁殖中每代近交系数的上升控制在较低的程度。

B.3.2 循环交配法

B.3.2.1 应用范围

循环交配法广泛适用于中等规模以上的实验动物远交群,其优点一是可以避免近亲交配,二是可以保证种动物对整个远交群有比较广泛的代表性。

B.3.2.2 实施办法

循环交配实施办法如下:

- 将远交群划分成若干个组,每组包含有多个繁殖单位(一雄一雌单位,一雄二雌单位,一雄多雌单位等);
- 安排各组之间以系统方法进行交配。

示例:一远交群每代有 48 笼繁殖用种动物(一雄一雌,或一雄多雌)。先将其分成 8 个组,每组有 6 笼。

各组内随机选留一定数量的种动物,然后在各组之间按以下排列方法进行交配,见表 B.2。

表 B.2 循环交配法组间交配编排

新组编号	雌种动物原组编号	雄种动物原组编号
1	1	2
2	3	4
3	5	6
4	7	8
5	2	1
6	4	3
7	6	5
8	8	7

B.3.3 随选交配法

B.3.3.1 应用范围

当远交群的动物数量非常多(繁殖种动物在 100 个繁殖单位以上),不易用循环交配法进行繁殖时,可用随选交配法。

B.3.3.2 实施办法

从整个种群中随机选取种动物,然后任选雌雄种动物交配繁殖。

附录 C

(资料性)

常用近交系小鼠、大鼠的遗传生化标记基因

C.1 常用近交系小鼠的遗传标记基因,见表 C.1。

表 C.1 常用近交系小鼠的遗传标记基因

遗传标记			主要近交系小鼠的标记基因					
生化座位	染色体	中文名称	A	AKR	C3H/He	C57BL/6	CBA/J	
<i>Akp1</i>	1	碱性磷酸酶-1	b	b	b	a	a	
<i>Car2</i>	3	碳酸酐酶-2	b	a	b	a	b	
<i>Ce2</i>	17	过氧化氢酶-2	a	b	b	a	b	
<i>Es1</i>	8	酯酶-1	b	b	b	a	b	
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	c	c	c	a	c	
<i>Es10</i>	14	酯酶-10	a	b	b	a	b	
<i>Gpd1</i>	4	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1	b	b	b	a	b	
<i>Gpi1</i>	7	葡萄糖磷酸异构酶-1	a	a	b	b	b	
<i>Hbb</i>	7	血红蛋白 β 链	d	d	d	s	d	
<i>Idh1</i>	1	异柠檬酸脱氢酶-1	a	b	a	a	b	
<i>Mod1</i>	9	苹果酸酶-1	a	b	a	b	b	
<i>Pgm1</i>	5	磷酸葡萄糖变位酶-1	a	a	b	a	a	
<i>Pep3</i>	1	肽酶-3	b	b	b	a	b	
<i>Trf</i>	9	转铁蛋白	b	b	b	b	a	
<i>H-2D</i>	17	组织相容性抗原-2D	—	k	k	b	k	
<i>H-2K</i>	17	组织相容性抗原-2K	—	k	k	b	k	
遗传标记			主要近交系小鼠的标记基因					
生化座位	染色体	中文名称	BALB/c	DBA/1	DBA/2	TA1/TM	TA2	615
<i>Akp1</i>	1	碱性磷酸酶-1	b	a	a	b	b	a
<i>Car2</i>	3	碳酸酐酶-2	b	a	b	b	a	a
<i>Ce2</i>	17	过氧化氢酶-2	a	b	a	b	b	b
<i>Es1</i>	8	酯酶-1	b	b	b	a	b	b
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	a	c	c	a	c	c
<i>Es10</i>	14	酯酶-10	a	b	b	b	a	a
<i>Gpd1</i>	4	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-1	b	a	b	b	b	b
<i>Gpi1</i>	7	葡萄糖磷酸异构酶-1	a	a	a	a	b	a
<i>Hbb</i>	7	血红蛋白 β 链	d	d	d	s	d	s
<i>Idh1</i>	1	异柠檬酸脱氢酶-1	a	b	b	a	a	a
<i>Mod1</i>	9	苹果酸酶-1	a	a	a	b	b	b
<i>Pgm1</i>	5	磷酸葡萄糖变位酶-1	a	b	b	a	b	b
<i>Pep3</i>	1	肽酶-3	a	b	b	c	b	a
<i>Trf</i>	9	转铁蛋白	b	b	b	b	b	b
<i>H-2D</i>	17	组织相容性抗原-2D	d	q	d	b	b	k
<i>H-2K</i>	17	组织相容性抗原-2K	d	q	d	b	b	k

C.2 常用近交系大鼠的生化标记基因,见表 C.2。

表 C.2 常用近交系大鼠的生化标记基因

遗传标记			主要近交系大鼠的标记基因						
生化座位	染色体	中文名称	ACI	BN	F344	LEW/M	LOU/C	SHR	WKY
<i>Akp1</i>	9	碱性磷酸酶-1	b	a	a	a	a	a	b
<i>Alp</i>	9	血清碱性磷酸酶	b	b	b	b	b	a	b
<i>Cs1</i>	2	过氧化氢酶	a	a	a	a	a	b	b
<i>Es1</i>	19	酯酶-1	b	a	a	a	a	a	a
<i>Es3</i>	11	酯酶-3	a	d	a	d	a	b	d
<i>Es4</i>	19	酯酶-4	b	b	b	b	b	a	b
<i>Es6</i>	8	酯酶-6	b	b	a	a	b	a	a
<i>Es8</i>	19	酯酶-8	b	a	b	b	b	b	a
<i>Es9</i>	19	酯酶-9	a	c	a	c	a	a	c
<i>Es10</i>	19	酯酶-10	a	b	a	a	a	a	b
<i>Hbb</i>	1	血红蛋白	b	a	a	b	a	a	a

附录 D

(资料性)

常用小鼠、大鼠的微卫星座位信息

D.1 常见近交系小鼠微卫星座位,见表 D.1。

表 D.1 常见近交系小鼠微卫星座位

座位	片段大小/bp						
	C57BL/6J	BALB/cJ	T739	SCID	DBA/2	FVB	NCPC/2
D1Mit365	92	92	104~108	104	104	92	92
D2Mit15	140	140	158	140	140	170	160
D3Mit29	144	196	144	144~202	180	144	144
D4Mit235	112	96	96	96	96	96	96
D5Mit48	202	196	208	198	204	198	196
D6Mit102	141	131	139	131	121	171	135
D7Mit281	110	136	136	136	136	136	136
D8Mit33	224	222	222	226	216	224	224
D9Mit23	206	204	208	204	204	208	204
D10Mit12	237	237	237	237	237	215	237
D11Mit4	251	245	251	245	285	251	295
D12Mit7	106	122	106~122	106	106~120	106	106~122
D13Mit3	162	188	172	188	196	188	196
D15Mit5	95	95	111	95	111	111	111
D16Mit9	143	123	131	123	123	123	111~131
D17Mit11	169	145	169	145	145	173	169
D18Mit19	154	160	154	152	156	158	158
D19Mit16	132	132	132~135	132	114	128	132
DXMit16	111	89	93	93	107	93	93
D6Mit8	163	185	173	185	143~185	143~185	149~185
D6Mit15	252	194	152	194	152	152	252
D7Mit12	201	201	233	201	207	201	211
D8Mit14	138	162	138	138~162	162	134	134
D9Mit21	193	193	193	193	179	179	193
D12Nds11	169~174	179	179	174~179	179	179	179
D14Mit3	226	226	226	226	226	226	226
D15Mit15	158	158	158	158	144	144	150
D17Nds3	136	114	156~158	118	122	114	132
D18Mit9	166	156	164	156	156	166	156
D19Mit3	197~201	197~201	197	197~201	197~207	197~201	215

D.2 常见近交系大鼠微卫星引物序列及常见品系带型,见表 D.2。

表 D.2 近交系大鼠微卫星引物序列及常见品系带型

引物名称	序列(5'-3')	常用品系带型		
		Lewis	BN	F344
D3Wox9(F)	TTCAGGTATGATTCGGGAAC	b	b	a
	ATTGGCGATATCATTTCACAAAC			
APOC3(F)	GATTTGAAGCGATTGTCCAT	b	a	b
	GTCTAGCTGCCACAGGAG			
D11mgh3(F)	GGAGCTGAAATACGAGAGAAATAA	a	c	b
	GTCCTGCTGGCTGTGCAT			
D12Mit2(F)	GTGGCTCTTTTCCTTAGGGA	b	b	a
	TCGGCTTCTGAATGTATTGG			
RATIL6G(F)	ACTCTACAAGGACCAGAAAGTG	a	a	b
	GCATCTTAGCTGGGCTGACC			
PA2S(F)	AGTGTGCCCCTCCTATGCATAC	a	b	b
	AGAACATGCTGTTGTCAGGCTC			

注:按泳动快慢将条带依次命名为 a、b、c…带,泳动最快的命名为 a 带。

D.3 远交群大鼠微卫星座位,见表 D.3。

表 D.3 25 个远交群大鼠微卫星引物序列

序号	座位	引物序列(5'-3')	染色体
1	D1Rat345	TTCACACAAATGCCACCAGT	1
		CAAAGAGATAGGGCGACAGG	
2	D1Mgh14	CCGCACTGAGCTCTCAGAG	1
		CCCAACCATTGAGCTAGTAAGG	
3	D2Wox15	GGTGCTAGTAGACAATAAGATAGAT	2
		TTCATGAGTTTTCACTGTTTGC	
4	D2Mgh26	ATTGGTGATCAGATTTTTTTCTCC	2
		CCCAACCATTGAGCTAGTAAGG	
5	D3Wox9	TTCAGGTATGATTCGGGAAC	3
		ATTGGCGATATCATTTCACAAAC	
6	D4Arb10	ACTCATCTTCTGAGGAGTAGCG	4
		TTCACAGTCTATTTGGTAGGGC	
7	D4Mit15	CCTAATGACAGCAATAGAACTACG	4
		TTTTGGTACTGGAGAAAGTTGG	

表 D.3 25 个远交群大鼠微卫星引物序列 (续)

序号	座位	引物序列(5'-3')	染色体
8	<i>D5Hmgc2</i>	ATGTTCCCTGATGTCCCTTC	5
		AAACCATGCCACGTGAAC	
9	<i>D6Mit1</i>	TTAGGAGAGAACTGAAAGTTGTCC	6
		ATGGTGCACATATGGTGGTCA	
10	<i>D7Mgh3</i>	CGGCATGTGTCTCTGTGTG	7
		TGACTTCTGGTGTCCCTCACG	
11	<i>D8Rat14</i>	GGCCGGTCTAATTATTTCTTCA	8
		GCCCATACGTTGCATCAAGT	
12	<i>D9Mit2</i>	TGACCAGTTAGCCCTTTCCA	9
		GGGAGCAGGGTTCTACACAG	
13	<i>D10Wox12</i>	CGCTGGGAGGAAAGAGAG	10
		AGGCTTGCACTCTGTGTTTG	
14	<i>D11Mgh3</i>	GGAGCTGAAATACGAGAGAAATAA	11
		GTCCTGCTGGCTGTGCAT	
15	<i>D11Wox3</i>	CACTTTGAGGCCATTCTGAA	11
		CCTTCTCTTTGTGAAAAATAAAGTC	
16	<i>D12Mit2</i>	GTGGCTCTTTTCCTTAGGGA	12
		TCGGCTTCTGAATGTATTGG	
17	<i>LCA</i>	TACAGAGCAAGCTCCAGGAC	13
		TGTTTCTAATCCATAGGAAGTGC	
18	<i>ALB</i>	TTTTCGTAGTAACGGAAGCC	14
		TAAGGATTCTCAGATGCAAATG	
19	<i>D15Mit3</i>	GACCTGACCTGTTGTGGGAT	15
		GTTGCTCTCTGGCCTCCTC	
20	<i>MBPA</i>	ACCTACACGGACACATGGTG	16
		GTTGTACTTCCTGATTTCCCTTT	
21	<i>ACRM</i>	AGGAAATTAAGAGAAGTTGGGACT	17
		TATGCTCTTTGGGCAGCTTA	
22	<i>TILP</i>	AATCACTGGATGCTGGAAGA	18
		AGGGAGCAGAACTACTAAAGATACA	
23	<i>AGT</i>	TATGTA ACTCAACGCCAGCC	19
		TAAGGATTCTCAGATGCAAATG	
24	<i>TNF</i>	AGGAAATGGGTTTCAGTTCC	20
		CAGGATTCTGTGGCAATCTG	
25	<i>PRPS2</i>	GTTTTCCCGCTTCACCAG	X
		AGAAGGAGAAAGCGACCG	

附录 E

(资料性)

常用近交系小鼠 SNP 标记基因

常用近交系小鼠 SNP 标记基因,见表 E.1。

表 E.1 常用近交系小鼠 SNP 标记基因

序号	染色体	SNP 标记基因	C57BL/6J	BALB/c	CBA/J	C3H/HeJ
1	1	AF-067836_350A_1	T	A	T	T
2	1	M22381_169_2	T	T	T	C
3	2	M-09011_1	A	A	C	C
4	3	M-02707_1	T	T	C	C
5	4	M-01609_1	C	T	T	T
6	5	M-02187_2	G	G	T	T
7	5	M-05233_3	A	A	A	A
8	6	M-02094_1	G	T	T	T
9	7	M-05782_1	T	G	G	G
10	8	M-11559_2	C	A	A	A
11	9	M-05537_1	A	A	G	A
12	9	M-04819_1	T	C	C	C
13	10	M-09526_2	T	G	T	T
14	10	M-05799_1	G	G	G	G
15	11	M-08924_1	A	C	A	C
16	11	M-05727_1	T	C	C	C
17	12	M-07403_3	T	C	C	C
18	13	M68896_151_1	C	T	T	T
19	13	M-05495_2	T	G	G	G
20	14	M-07251_1	T	T	T	T
21	15	M-07646_1	G	G	A	A
22	16	M-01322_2	A	T	T	A
23	17	M-04659_1	A	A	G	G
24	17	AF027865_1	T	C	C	C
25	18	M-09844_1	G	A	G	G
26	19	M-02162_1	G	A	A	G
27	X	M-05810_1	T	T	C	T
28	8	08-015199792-M	T	C	—	C
29	11	11-004367508-M	G	A	A	A
30	13	13-041017317-M	T	C	C	—
31	15	15-057561875-M	A	—	—	G
32	19	19-049914266-M	G	—	—	—
33	1	01-032174982-M	G	T	—	—
34	4	04-063116157-M	T	C	—	T
35	18	18-064780780-M	G	A	—	G

附录 F
(资料性)

小型猪微卫星标记基因

F.1 实验用五指山小型猪近交系、广西巴马小型猪和贵州小型猪近交系培育过程中,遗传质量控制的微卫星座位及优势等位基因,见表 F.1.1。

表 F.1.1 实验用五指山小型猪近交系、广西巴马小型猪和贵州小型猪近交系培育过程中,遗传质量控制的微卫星座位及优势等位基因

群体	等位基因	座位 %																		
	bp	CGA	bp	SW769	bp	SW857	bp	S0005	bp	SW240	bp	S0355	bp	SW72	bp	S0090	bp	S0218	bp	SW24
五指山小型猪近交系	189	0.023	105	0.093	150	0.163	238	0.671	116	0.171	258	0.750	106	0.588	241	0.756	173	0.012	104	0.631
	199	0.872	129	0.907	158	0.837			124	0.537	266	0.138	114	0.238	247	0.012	179	0.547		
	203	0.023															181	0.419		
	293	0.081																		
五指山小型猪近交系 等位基因频率合计		1.000		0.907		1.000		0.671		0.707		0.888		0.825		0.756		0.547		0.631
	271	0.490	123	0.194	146	0.146	216	0.223	94	0.531	258	0.083	110	0.698	241	0.032	167	0.115	102	0.750
广西巴马小型猪	277	0.281	127	0.806	154	0.573	226	0.660	98	0.333	260	0.427	120	0.083	243	0.117	173	0.740	104	0.021
	297	0.229							104	0.115	262	0.427			247	0.489	179	0.125		
															249	0.117	187	0.021		
广西巴马小型猪 等位基因频率合计		1.000		1.000		0.719		0.883		0.979		0.854		0.781		0.606		0.854		0.750

表 F.1 实验用五指山小型猪近交系、广西巴马小型猪和贵州小型猪近交系培育过程中,遗传质量控制的微卫星座位及优势等位基因(续)

群体	等位基因	座位 %																			
	bp	CGA	bp	SW769	bp	SW857	bp	S0005	bp	SW240	bp	S0355	bp	SW72	bp	S0090	bp	S0218	bp	SW24	
贵州小型猪	271	0.011	105	0.291	156	0.167	202	0.558	96	0.227	252	0.183	102	0.170	247	0.045	181	0.151	100	0.114	
	283	0.136	121	0.267	160	0.452	204	0.244	102	0.182	254	0.098			249	0.580	187	0.186	104	0.114	
	285	0.364	129	0.093	166	0.202	214	0.186			272	0.110	112	0.625	253	0.375	195	0.023	108	0.216	
	305	0.295	133	0.151							274	0.341	118	0.045			197	0.500	112	0.136	
			139	0.081																	
			145	0.116																	
贵州小型猪 等位基因频率合计		0.795		0.907		0.821		0.988		0.409		0.732		0.841		0.955		0.709			0.466

F.2 各微卫星座位的引物序列、染色体位置、最佳扩增条件、等位基因数及等位基因分布范围,见表 F.2。

表 F.2 各微卫星座位的引物序列、染色体位置、最佳扩增条件、等位基因数及等位基因分布范围

座位	引物序列(5'-3')	所在染色体	镁离子浓度 mmol/L	退火温度 ℃	等位 基因数	等位基因范围 bp
SW974	GGTGAAGTTTTTGCTTTGAACC GAAAGAAATCCAAATCCAAACC	1	2.0	58	17	129~175
S0091	TCTACTCCAGGAGATAAGCCAGAT CAGTGACTCCATGCACAGTTATGA	2	1.5	55	14	96~174
SW240	AGAAATTAGTGCCTCAAATTGG AAACCATTAAGTCCCTAGCAA	2	1.5	58	11	92~114
SW1066	GCAGGATGAACCACCCTG CTCTTGAGGCAACCTGCTG	3	2.0	60	19	166~214
SW1089	TTTTCCCCTTCACTCACCC GATCAAAGTCCCTTACTCCGG	4	1.5	58	10	142~190
S0005	TCCTTCCCTCCTGGTAACTA GCACTTCCTGATTCTGGGTA	5	2.0	54	11	204~244
SW1057	TCCCCTGTTGTACAGATTGATG TCCAATTCCAAGTTCCACTAGC	6	2.0	58	14	142~191
SW632	TGGGTTGAAAGATTTCCCAA GGAGTCAGTACTTTGGCA	7	2.0	54	9	148~173
OPN	CCAATCCTATTCACGAAAAAGC CAACCCACTTGCTCCCAC	8	2.0	59	12	138~170
SW29	AGGGTGGCTAAAAAAGAAAAGG ATCAAATCCTTACCTCTGCAGC	8	2.0	61	12	133~187
SW911	CTCAGTTCTTTGGGACTGAACC CATCTGTGGAAAAAAAAAAGCC	9	2.0	60	14	151~178
SW511	AAGCAGGAATCCCTGCATC CCCAGCCACCAGTCTGAC	9	1.5	62	12	161~196
SW _r 158	TCCAATTCAACTCCTGGCTC GAATGTGCACATACCACATGC	10	2.0	60	18	158~200
SW951	TTTCACTCTGGCACCAG GATCGTGCCCAAATGGAC	10	1.5	58	14	108~142
SW271	TTCCAGTGGCTTTCTGTGC CATTCAATCCAGTGAACTTG	3	1.5	58	13	111~144
S0386	TCCTGGGTCTTATTTTCTA TTTTTATCTCCAACAGTAT	11	2.0	48	12	155~178
S0068	CCTTCAACCTTTGAGCAAGAAC AGTGGTCTCTCTCCCTCTTGCT	13	2.0	62	10	210~256

表 F.2 各微卫星座位的引物序列、染色体位置、最佳扩增条件、等位基因数及等位基因分布范围 (续)

座位	引物序列(5'-3')	所在染色体	镁离子浓度 mmol/L	退火温度 ℃	等位 基因数	等位基因范围 bp
<i>SW_r1008</i>	ACAGCCACCAACAGTGTTTG GAACTTCCATATGCTGCAAGTG	13	2.0	62	16	98~256
<i>S0007</i>	TTACTTCTTGGATCATGTC GTCCCTCCTCATAATTTCTG	14	2.0	54	15	142~192
<i>SW857</i>	TGAGAGGTCAGTTACAGAAGACC GATCCTCCTCCAAATCCCAT	14	2.0	58	16	129~173
<i>SW_r312</i>	ATCCGTGCGTGTGTGCAT CTGGTGGCTACAGTTCCGAT	15	1.5	64	11	116~136
<i>SW81</i>	gatctggtcctgcacaggg GGGGCTCTCAGGAAGGAG	16	1.5	60	8	128~144
<i>SW_r1120</i>	CAAATGGAACCCATTACAGTCC ACTCCTAGCCCAGGAGCTTC	17	1.5	60	11	147~178
<i>S0062</i>	AAGATCATTTAGTCAAGGTCACAG TCTGATAGGGAACATAGGATAAAT	18	2.0	56	12	144~204
<i>S0218</i>	GTGTAGGCTGGCGGTTGT CCCTGAAACCTAAAGCAAAG	X	1.5	54	11	158~196

附 录 G
(资料性)
长爪沙鼠微卫星标记基因

长爪沙鼠微卫星标记基因信息,见表 G.1。

表 G.1 长爪沙鼠微卫星座位的引物序列、最佳扩增温度、等位基因数及等位基因分布范围

座位	引物序列(5'-3')	镁离子浓度 mmol/L	退火温度 ℃	等位 基因数	等位基因分布范围 bp
AF200942	CAGGCACCCCCAGTTT GTCTACACAGGCTGAGGATGT	2.0	54	15	180~215
AF200943	GGCTCCTGATTCTACATTTCT CAACCATTGGCAACTCTC	2.0	57	17	154~181
AF200944	GCTGGGCTTTAATGTTTATTT GGTGGCTCACACTTTCTGT	2.0	54	19	113~134
AF200946	TTTCTGGGGTCTCTTTCTCTC CCATTCTGCAAGACTCCTCT	2.0	57	28	195~242
AF200945	AGTCCCTATTACATCCACAAG TTATCCTGCAAAGCCTAAG	2.0	57	12	166~186
AF200941	TGGGTCCTTTGGAAGA TGGCTTAAAATGAATCACTTA	2.0	55	24	115~153
AF200947	GACAGAGTGGGAGGGGTATGT TGGCAAGTTTGGTTTGTGTTGA	2.0	55	17	188~212
D16Mit7	CTGCCACCCCTGAACCATTA CTACAAGATGTGGGGCATGA	2.0	52.6	15	480~529
D16Mit26	CAGGAATAAAGTATAATGGGGTGC CCCATGATCAGTTGGGTTTT	2.0	49.1	9	207~266
D1Mit362	TGTGTGACTGCTTGGAAGATG CTGAGTCCCTAAAGTTGTCCTTG	1.5	50.0	16	476~504
D8Mit184	GTTTTTCTCAGAAGAATGCAATATACC TGAGAAGAATGAGGAATTTGTCC	2.0	48.1	11	196~229
D7Mit33	TCTGAAGTTTGAATGGTTGTGG TTTCAAATCGTGTCATTTTGC	2.0	47.3	15	376~394
D6Mit37	AAAGAATTGCACATCCACTGG TGCCAGGATGTTTAAGAGG	2.0	47.0	14	246~265
D5Mit31	TCAGGGCTCTCTAAGGGACA ACTATGCAGCCACCAAATCC	2.0	53.1	9	318~350
D12Mit201	CCACTGGATGGCAACAGAC TATGTGTTTCAAACCACTCG	2.0	53.1	18	245~283

表 G.1 长爪沙鼠微卫星座位的引物序列、最佳扩增温度、等位基因数及等位基因分布范围 (续)

座位	引物序列(5'-3')	镁离子浓度 mmol/L	退火温度 ℃	等位 基因数	等位基因分布范围 bp
<i>D2Mit22</i>	GCTCCCTTTCCTCTTGAACC GGGCCCTTATTCTATCTCCC	2.0	49.1	9	173~192
<i>D15Mit124</i>	AGGAGAGAACCAACTGCTGC GGCCAGTGATGACTTTATAATGC	2.5	59.8	17	232~258
<i>D11Mit36</i>	CCAGAACTTTTGCTGCTTCC GTGAGCCCTAGGTCCAGTGA	2.0	58.7	15	234~256
<i>D7Mit71</i>	CCACCTGGAATACATGTAACCC TAAGATCCAAGAGATGGGTAAAGC	2.0	49.1	11	165~200
<i>D2Mit76</i>	CTCAAGTCTCACTTCTCTGCACA ACACCCAAGGTTGACCTCTG	2.0	47.3	19	281~328
<i>D3Mit130</i>	AACACATGAAACGTGTGCGT TGATAGGCATGCTTAAGCCC	2.0	50.6	11	213~251
<i>D19Mit1</i>	AATCCTTGTTCACTCTATCAAGGC CATGAAGAGTCCAGTAGAAACCTC	2.0	49.1	15	133~165
<i>D11Mit35</i>	AGTAACATGGAACATCGACGG TGCTCAGCTCTGGAGTGCTA	2.0	48.1	13	287~307
<i>D17Mit38</i>	CCTCTGAGGAGTAACCAAGCC CACAGAGTTCTACCTCCAACCC	2.0	52.6	14	195~251
<i>DXMit17</i>	CCTGTTTGGGCACCTAGATT TAATAACCCATGTTTTCTGTGGG	2.0	48.1	9	234~251
<i>D8Mit56</i>	ACACTCAGAGACCATGAGTACACC GAGTTCACCTACCCACAAGTCTCC	2.0	50.6	9	100~126
<i>D10Mit66</i>	TCTCCTTGGAATTCACAGCC GACATTCCTTAAGAGAGACAGTCC	2.0	54.7	14	272~298
<i>D13Mit1</i>	TCATTCAACATTCTGTCAATCG CACAACAAGGTTAACCTCTAGACA	2.0	49.0	14	104~132