

T/YALAS

云南省实验动物学会团体标准

T/YALAS 020—2025

实验动物 羊驼微卫星 DNA 遗传学检测方法

Laboratory animal-Detection method of microsatellite DNA detection of genetic diversity for Alpacas



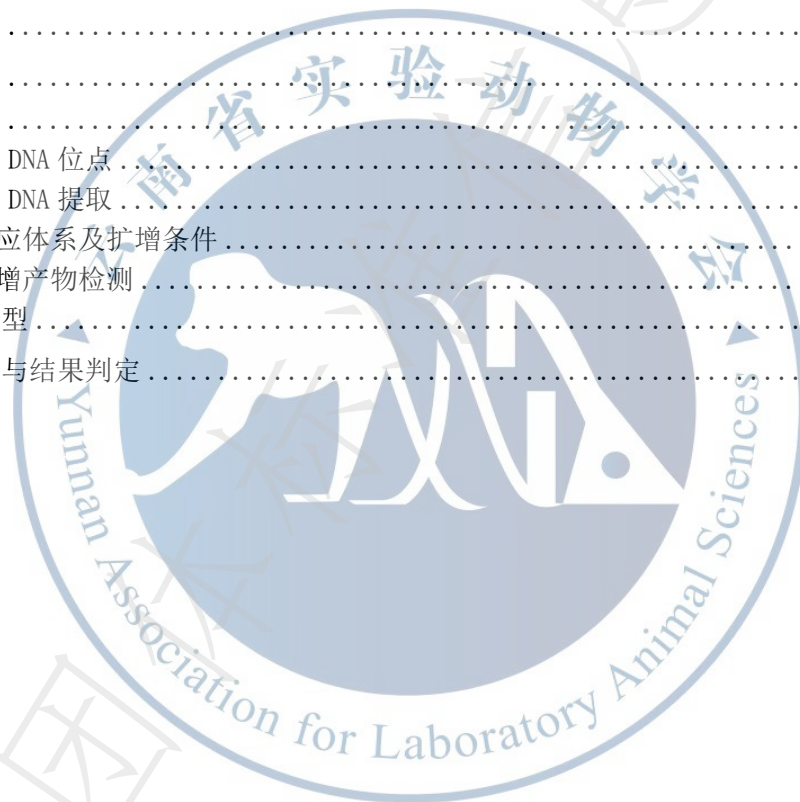
2026 - 01 - 08 发布

2026 - 01 - 15 实施

云南省实验动物学会 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
3.1 实验羊驼 .....	1
3.2 微卫星 .....	1
4 检测方法 .....	1
4.1 采样 .....	1
4.2 微卫星 DNA 位点 .....	1
4.3 基因组 DNA 提取 .....	3
4.4 PCR 反应体系及扩增条件 .....	3
4.5 PCR 扩增产物检测 .....	3
4.6 基因分型 .....	3
5 数据统计分析与结果判定 .....	4



## 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。

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。

本文件由云南省实验动物学会提出。

本文件由云南省实验动物学会（YALAS）归口。

本文件起草单位：中国科学院昆明动物研究所、中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、云南省实验动物学会。

本文件主要起草人：吕龙宝、齐瑛琳、于海波、李昌文、张伟、王野、肖文娴、夏长友、陈洪岩、张飞燕、李倩、孙玉林、赵玲、金洁。



# 实验动物 羊驼微卫星 DNA 遗传学检测方法

## 1 范围

本文件规定了实验羊驼微卫星 DNA 遗传学检测方法、数据统计分析与结果判定。  
本文件适用于实验羊驼遗传质量控制及遗传组成分析等。

## 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。

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范  
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 实验羊驼 laboratory alpaca

经人工培育，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、检定及其他科学实验的羊驼。

### 3.2 微卫星 DNA microsatellite DNA

也称短串联重复序列或简单重复序列，指生物体基因组中由 1~6 个核苷酸组成的串联重复序列。不同个体的重复数不同而形成了微卫星 DNA 的多态性。

## 4 检测方法

### 4.1 采样

实验羊驼外观检查应无异常，核对编号；采集静脉血 0.5 mL，-20℃低温保存。采样方法应按照 NY/T 541 进行。

### 4.2 微卫星 DNA 位点

羊驼微卫星 DNA 位点的名称、引物序列、等位基因数、PCR 反应的退火温度应符合表 1 规定。

表 1 羊驼微卫星 DNA 位点

序号	名称	等位基因 (n)	引物序列 (5'-3')	等位基因 参考范围 (bp)	退火温度 (°C)
1	LCA56	16	ATGGTGTTTACAGGGCGTTG GCATTACTGAAAAGCCCAGG	133-169	58
2	LCA63	14	TTACCCAGTCCTTCGTGGG GGAACCTCGTGGTTATGGAA	190-254	56
3	LCA65	14	TTTTTCCCCTGTGGTTGAAT AACTCAGCTGTTGTCAGGGG	165-191	58
4	LCA66	24	GTGCAGCGTCCAAATAGTCA CCAGCATCGTCCAGTATTCA	220-262	56
5	LCA68	10	TCCTGTCTGTGAGAAGGCTG CCGAAGGAAAAATAAAATGGAA	191-209	56
6	LCA70	7	TTCTGATGTATGGCATAGCGA TGGGGGTAAGAGCAGGATAA	211-223	56
7	LCA71	6	CAGACATATACCTGTATCCGTATCTA TTCAGTGTTCCTCGCAATG	136-150	56
8	LCA77	15	TGTTGACTAGAGCCTTTTCTTCTTT GGGCAAGAGAGACTGACTGG	233-263	58
9	YWLL02	6	GTGCACTCAGATACCTTCACA TACATCTGCAATGATCGACCC	278-290	56
10	YWLL07	2	CACATGCCTGTTCCTCTGAT GACAAACCACAAGCATAAACC	150-152	58
11	YWLL08	13	ATCAAGTTTGAGGTGCTTTCC CCATGGCATTGTGTTGAAGAC	135-177	60
12	YWLL09	9	AAGTCTAGGAACCGGAATGC AGTCA ATCTACTCCTTGC	154-180	60
13	YWLL19	6	CTCACAGACCACAGTTCAGT AAGGTCCATCCATGTTGTCAC	137-161	60
14	YWLL29	6	GAAGGCAGGAGAAAAGGTAG CAGAGGCTTAATAACTTGCAG	218-232	56
15	YWLL30	3	TTAAGGGTTCCTGTATTTGG AAGCAGGATAGTGGTGAAGT	104-110	58
16	YWLL 36	7	AGTCTTGGTGTGGTGGTAGAA TGCCAGGATACTGACAGTGAT	148-166	56
17	YWLL38	3	GGCCTAAATCCTACTAGAC CCTCTCACTCTTGTTCCTC	174-178	60
18	YWLL40	6	CACATGACCATGTCCCCTTAT CCAGTGACAGTGTGACTAAGA	180-190	58
19	YWLL43	10	ATACCTCTCTTGCTCTCTCTC	131-157	58

			CCTCTACAACCATGTTAGCCA		
20	YWLL44	11	CTCAACAATGCTAGACCTTGG GAGAACACAGGCTGGTGAATA	86-120	58
21	YWLL46	5	AAGCAGAGTGATTTAACCGTG GGATGACTAAGACTGCTCTGA	98-110	56
22	YWLL58	6	GGCATCTCTCCTCATCAAT GACATCTCCAACCTGGAATC	175-194	56
23	YWLL59	10	TGTGCAGGAGTTAGGTGTA CCATGTCTCTGAAGCTCTGGA	96-136	56

#### 4.3 基因组 DNA 提取

用苯酚氯仿法或试剂盒提取基因组 DNA。

#### 4.4 PCR 反应体系及扩增条件

PCR 反应体系如表 2 所示。

表 2 PCR 反应体系

组分	体积
10×Buffer	2.5 μL
2.5 mM dNTP	1 μL
10 μM 上游引物	1 μL
10 μM 下游引物	1 μL
基因组 DNA (20 ng/μL)	1 μL
DNA 聚合酶	0.5 μL
dd H <sub>2</sub> O	18 μL
PCR 反应总体积: 25 μL	

PCR 扩增条件: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 30 s, 退火 (不同微卫星 DNA 引物对退火温度详见表 1) 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 30 个循环; 72℃ 延伸 10 min。扩增产物 4℃ 保存。

#### 4.5 PCR 扩增产物检测

PCR 扩增产物的检测方法按照 NY/T 1673 进行。

#### 4.6 基因分型

4.6.1 采用凝胶成像分析系统对检测片段的大小进行判定, 依据分子量标记物进行标准比对。

4.6.2 等位基因的确定遵循以下原则:

- a) 片段大小处于表 1 参考范围内;
- b) 条带清晰可辨;
- c) 纯合子表现为单一条带, 杂合子表现为两条条带, 且两条带信号强度基本一致;

d) 对于条带不清晰或结果不明确的样本，需重新进行扩增检测。

## 5 数据统计分析与结果判定

等位基因频率、哈代-温伯格平衡检验、遗传杂合度和平均遗传杂合度、多肽信息含量的计算与判定、基因分化系数的计算和判定、Nei 氏标准遗传距离、Nei 氏遗传距离、非加权组对算术平均法聚类和邻近结合法聚类数据统计分析与结果判定按照 NY/T 1673 进行。

