



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 25887—2010

---

## 奶牛脊椎畸形综合征检测 PCR-RFLP 法

Method of PCR-RFLP for detecting complex vertebral malformation in dairy cattle

2011-01-10 发布

2011-06-01 实施

---

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局  
中国国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本标准的附录 B 为规范性附录,附录 A、附录 C 为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:华中农业大学。

本标准主要起草人:张淑君、杨利国、李翔、胡修忠、刘文举、宋利军。

## 奶牛脊椎畸形综合征检测 PCR-RFLP 法

### 1 范围

本标准规定了奶牛脊椎畸形综合征的 PCR-RFLP 检测技术。

本标准适用于奶牛脊椎畸形综合征的检测与诊断。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

#### 3.1

**奶牛脊椎畸形综合征 complex vertebral malformation in dairy cattle;CVM**

奶牛的一种常染色体隐性遗传病,主要表现为母牛流产、胎儿早期死亡、出生后不久死亡,患病犊牛主要症状表现为:颈短、脊椎畸形、心脏畸形、腿部畸形、系部呈现对称的内向僵直等。

#### 3.2

**SLC35A3 基因 SLC35A3 gene**

定位于牛第 3 号染色体上,在基因序列数据库(GenBank)中的登录号为 AY160683,全长 14901bp, mRNA 为 981bp,由 7 个外显子和 6 个内含子组成,该基因编码核糖转运蛋白,与脊柱发育有关,是奶牛脊椎畸形综合征的致病基因。

#### 3.3

**限制性片段长度多态性 restriction fragment length polymorphism, RFLP**

检测 DNA 用限制性内切酶酶切后形成的特定 DNA 片段的大小。因此凡是可以引起酶切位点变异的突变如点突变(新产生和去除酶切位点)和一段 DNA 的重新组织(如插入和缺失造成酶切位点间的长度发生变化)等均可导致 RFLP 的产生。

### 4 原理

SLC35A3 基因第四外显子中第 559 位碱基由 G 突变为 T 时,其对应编码的氨基酸由缬氨酸改变为苯丙氨酸,导致奶牛脊椎畸形综合征的发生。采用 PCR-RFLP 技术检测牛样本基因组 DNA 变异,即采用 PCR 技术扩增 SLC35A3 基因片段,限制性内切酶消化 PCR 扩增产物,电泳检测酶切产物,对 SLC35A3 基因进行分型,根据基因型判定奶牛是否携带脊椎畸形综合征的致病基因。

### 5 扩增 SLC35A3 基因片段的引入酶切位点 PCR 引物

5' CCACTGGAAAAACATGCTGTGAGTA 3'

5' GCTCTCCTCTGTAATCCCCA 3'

预期扩增长度为 225 bp。