

ICS 65.020.30
B 43



中华人民共和国国家标准

GB/T 31581—2015

GB/T 31581—2015

牛性控冷冻精液生产技术规程

Code of practice on production of bovine frozen sexed-semen

中华人民共和国
国家标准
牛性控冷冻精液生产技术规程
GB/T 31581—2015

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

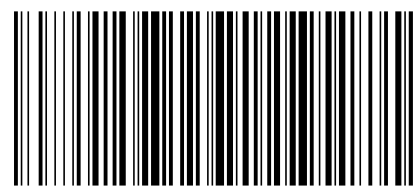
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字
2015年6月第一版 2015年6月第一次印刷

*

书号: 155066·1-51984 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 31581—2015

2015-05-15 发布

2015-10-01 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

附录 B
(规范性附录)

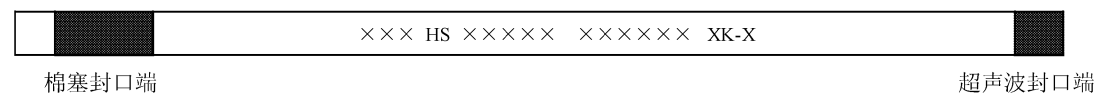
细管性控冷冻精液标记方法

细管性控冷冻精液标记由 20 个字符、5 个部分组成,每部分之间空开 2 个字符位置,排列顺序如下:

第一部分	第二部分	第三部分	第四部分	第五部分
生产单位代号	品种代号	公牛注册号	生产日期	性控标记
三个字符	二个字符	五个字符	六个字符	四个字符

第一部分公牛站代号以农业部公布的公牛站代号为准(参照 NY/T 1234 标准执行);第二部分品种代号以 GB 4143 为依据;第三部分公牛号取该牛身份证号码的后五位数;第四部分冻精生产日期六位数按年、月、日次序排列,年、月、日各占二位数;第五部分性控标记:性控或 XK,X 为雌性,Y 为雄性。每部分之间间隔 2 个字符位置。标记的字迹应清晰易认。

示例:



×××为生产单位代号,HS 为荷斯坦公牛的品种代号,×××××为该公牛身份证号码的后五位数,×××××××为 20××年××月××日的生产日期,XK-X 代表性控 X 精子。

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

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(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:农业部牛冷冻精液质量监督检验测试中心(北京)、内蒙古赛科星繁育生物技术股份有限公司、北京奶牛中心、中国农业大学、全国畜牧总站、农业部牛冷冻精液质量监督检验测试中心(南京)。

本标准主要起草人:张晓霞、李喜和、周文忠、刘海良、孙飞舟、张胜利、陆汉希、杨清峰、武玉波、钱松晋、张海涛、刘玉、赵鹏、王建国、胡树香、张勇、胡志刚。

附录 A
(规范性附录)

牛性控冷冻精液生产相关溶液配制

A.1 溶液配制

试剂纯度应达到分析纯。

A.1.1 Tris-A 工作液

取 Trizma Base 35.32 g、柠檬酸 17.21 g、D-果糖 12.65 g 溶于 750 mL 双蒸水,搅拌 30 min,再加入双蒸水至 1 000 mL。溶液 pH 调到 6.8,然后用 0.22 μm 的过滤器过滤除菌,5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 14 d。

A.1.2 20%卵黄 Tris-A 液

取 Tris-A 工作液 199 mL,添加 51 mL 卵黄液,搅拌 15 min,5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 静置 12 h,去除沉淀,吸出表层卵脂后,在 18 500g 的条件下离心。然后用 0.22 μm 的过滤器过滤除菌,加入抗生素,5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 7 d。

A.1.3 Tris-B 工作液

取 Trizma Base 35.746 g、柠檬酸 19.980 g、D-果糖 14.712 g 溶于 750 mL 双蒸水,搅拌 30 min,再加入双蒸水至 1 000 mL。溶液 pH 调到 6.8,然后用 0.22 μm 的过滤器过滤除菌,5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 14 d。

A.1.4 12%甘油 Tris-B 液

先用 Tris-B 工作液配制 23%(体积分数)卵黄液,搅拌 15 min 后置 5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下 12 h 析出沉淀。静置后吸出表层卵脂,并在 18 500g 的条件下进一步离心沉淀。然后用 0.22 μm 的过滤器过滤除菌。再加入甘油使甘油终浓度达到 12%(体积分数)。溶液 pH 调到 6.8,加入抗生素,在 5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 7 d。

A.2 分离机缓冲液 Tris-sheath 配制

配制 20 L Tris-sheath 工作液:取 Trizma Base 477.6 g、柠檬酸 232.6 g、D-果糖 171.0 g 溶于 3.0 L 双蒸水中搅拌 30 min,并加盐酸把 pH 调到 6.8,然后添加抗生素用 0.22 μm 的过滤器过滤灭菌,再加双蒸水至 20.0 L 容量,调节 pH 至 6.8,渗透压 290 mOsm \pm 10 mOsm。在 5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期 14 d。

A.3 荧光染色液和食品红染色液配制

A.3.1 0.5%荧光染色液

将 10 mg 荧光染料 Hoechst 33342 定容于 2 mL 双蒸水中,在 5 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下避光保存,有效期 90 d。

牛性控冷冻精液生产技术规程

1 范围

本标准规定了牛性控冷冻精液生产的器械清洗和消毒、稀释液配制、采精、精液处理、精子分离、冷冻、解冻、检验、包装、贮存及运输。

本标准适用于采用流式细胞分离技术生产牛性控冷冻精液。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 4143 牛冷冻精液

GB/T 5458 液氮生物容器

GB/T 31582 牛性控冷冻精液

NY/T 1234 牛冷冻精液生产技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

精子分离 sperm sorting

根据 X 精子和 Y 精子 DNA 含量的差异,利用流式细胞分离方法将 X 精子和 Y 精子分离开。

3.2

性控冷冻精液 frozen sexed-semen

分离后富含 X 精子或 Y 精子、经超低温冷冻后在液氮中长期保存的精液。

4 采精用品清洗和消毒

按照 NY/T 1234 的规定执行。

5 溶液配制与灭菌

5.1 溶液配制

5.1.1 稀释液

稀释液配制见附录 A 中 A.1。

5.1.2 分离机缓冲液 Tris-sheath

分离机缓冲液 Tris-sheath 的配制见 A.2。