



中国实验灵长类养殖开发协会团体标准

T/CLPBDA0011-2024

食蟹猴/猕猴 胚胎移植方法

Cynomolgus macaque / Rhesus macaque- The method of embryo transplantation

2024-10-01 发布

2024-10-01 实施

中国实验灵长类养殖开发协会发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义	1
4 胚胎移植方法	1
4.1 试剂、耗材及试剂配制.....	1
4.2 仪器设备.....	2
4.3 胚胎移植实验步骤.....	2
4.3.1 手术前动物准备.....	2
4.3.2 基于腹腔镜系统的胚胎移植.....	2
附录 A（资料性）胚胎移植所需仪器.....	3
参考文献	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这些专利的责任。

本文件由中国实验灵长类养殖开发协会提出并归口。

本文件主要起草单位：中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心。

本文件参与起草单位：中国实验灵长类养殖开发协会、中国科学院昆明动物研究所、中国医学科学院医学生物学研究所、中国医学科学院医学实验动物研究所、军事医学研究院实验动物中心、广东省实验动物监测所、广东省科学院动物研究所、莫泰科生物技术咨询（北京）有限公司、苏州西山生物技术有限公司、从化市华珍动物养殖场。

本文件主要起草人：孙强、李春杨、许玉婷、刘璐、黄韧、李秦、魏强、时长军、吕龙宝、和占龙、邱业峰、张睿、黄健华、张玉超。

本标准赞助单位：从化市华珍动物养殖场、广东春盛生物科技发展有限公司、广西雄森灵长类实验动物养殖开发有限公司、广西桂东灵长类开发实验有限公司、广西南宁通灵生物科技有限责任公司、湖北天勤生物科技有限责任公司、海南金港生物技术股份有限公司、四川格林豪斯生物科技有限责任公司、四川横竖生物科技股份有限公司、北京昭衍新药研究中心股份有限公司、昆明亚灵生物技术有限公司。

食蟹猴/猕猴 胚胎移植方法

1 范围

本文件规定了食蟹猴/猕猴的胚胎移植方法。

本文件适用于包括：转基因猴模型制备、基因编辑猴模型制备、食蟹猴体细胞克隆、基因改造猴模型扩繁等食蟹猴/猕猴辅助生殖类型实验的胚胎移植实验。

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。

GB/T 35823-2018 实验动物 动物实验通用要求

3 术语和定义

3.1

胚胎移植 Embryo Transplantation

胚胎移植是指将体外受精及其它方式得到的胚胎，移植到同期发情的雌性食蟹猴/猕猴体内，使之继续发育为一个新的个体的过程。

4 胚胎移植方法

4.1 试剂、耗材及试剂配制

4.1.1 试剂

4.1.1.1 TH3

4.1.1.2 舒泰 50

4.1.1.3 矿物油

4.1.1.4 75%酒精

4.1.1.5 阿托品

4.1.1.6 青霉素

4.1.1.7 碘酊

4.1.1.8 高纯氮气 (N₂)

注：也可用其他等效试剂。

T/CLPBDA0011-2024

4.1.2 耗材

4.1.2.1 培养皿（35mm、60mm、100mm）

4.1.2.2 移液器吸头（10 μL、200 μL、1000 μL）

4.1.2.3 口吸管 自制

4.1.2.4 酒精灯

4.1.2.5 无菌洞巾

4.1.2.6 干棉球

注：也可用其他等效耗材。

4.1.3 试剂配制

TH3，配比可见本系列标准食蟹猴/猕猴 卵母细胞采集方法--附录 D，也可按其他等效试剂或商业试剂盒的说明书进行配制。

4.2 仪器设备

所需仪器参见附录 A，也可用其他等效仪器。

4.3 胚胎移植实验步骤

4.3.1 手术前动物准备

4.3.1.1 受体动物手术前禁食 12 h。

4.3.1.2 麻醉前给药：阿托品 0.1 mg/kg，皮下注射；青霉素 10 万单位/kg，肌肉注射。

4.3.1.3 麻醉：舒泰 50，剂量 5 mg/kg，肌肉注射。

4.3.1.4 备皮：上至肚脐上方 3 cm 处，下至腹股沟处，将肚皮的毛剔除干净。

4.3.1.5 保定：麻醉后的受体动物采取仰卧位，以头低臀高的姿势放置在手术台上，然后将四肢分别用绷带固定在手术台的四个支架上。

4.3.1.6 消毒：先用 2% 碘酊对术部皮肤进行消毒（腹部剃毛区全部消毒），待碘酊干燥后，用 75% 的酒精脱碘三次。

4.3.1.7 铺上一次性无菌洞巾，暴露术区。

4.3.2 基于腹腔镜系统的胚胎移植

4.3.2.1 将 TH3 放置于恒温试管架上（37℃）预热 30min。

4.3.2.2 气腹针（NYA1078）以 45°角于脐轮上缘 1 cm 处插入腹腔，接 N₂ 气腹机，进气速度不超过 1 L/min，腹腔内压力不超过 24 mm Hg。充入适量 N₂，使腹部隆起，皮肤紧绷为宜。换戳卡插入，拔出套管芯，缓缓进入腹腔镜。

4.3.2.3 从腹股沟位置向上约 2cm 处插入气腹针，拨开大网膜或脂肪，暴露两侧卵巢，确定有大卵泡或排卵点。

4.3.2.4 用眼科剪在卵巢对应部位处开口约 1 cm，用止血钳伸入腹腔内夹紧卵巢附近的脂肪垫，将卵巢及输卵管拽出，理顺输卵管。

4.3.2.5 用预热好的 TH3 做一个 20 μ L 的液滴。

4.3.2.6 将培养碟中需要移植的胚胎（一般为 3 枚，胚胎处于 2-cell、4-cell、8-cell、囊胚时期）吸入 TH3 液滴中。

4.3.2.7 用吸卵针先吸入 0.5cm 的 TH3 段和 0.5cm 的空气段，然后吸入胚胎（尽可能一枚接着一枚），再次吸 0.5cm 的空气段。

4.3.2.8 从输卵管伞部进入输卵管，吹出胚胎(撤针时保持吹力，吸卵针口即将到达喇叭口时放松)。

4.3.2.9 在 TH3 滴滴吐清洗吸卵针，确定吸卵针内无胚胎。

4.3.2.10 采用结节缝合，先用可吸收肠线缝合腹膜及肌肉，再用不可吸收缝合线缝合皮肤。

4.3.2.11 手术完成后动物转回饲养室。

附录 A

(资料性)

胚胎移植所需仪器

A.1 精密天平

A.2 离心管（15 mL、50 mL）

A.3 烧杯（500 mL）

A.4 移液器（20 μ L、200 μ L、1000 μ L）

A.5 不锈钢勺子、称量纸

A.6 手术器械包（气腹针、戳卡、眼科剪、镊子、持针钳、止血钳、圆针、三棱针）

A.7 无影灯

A.8 液晶监视器

A.9 气腹机

A.10 体视镜

A.11 内窥镜冷光源

A.12 恒温试管架

T/CLPBDA0011-2024

A.13 摄像主机

A.14 培养箱

A.15 剃毛器

注：也可用其他等效仪器

参考文献

- [1] 庄广伦, 周灿权, 张秀俊, 张曦伟. 人类体外受精与胚胎移植[J]. 中山医科大学学报, 1991年第四期299-302
- [2] 熊成培, 陈学进, 陈永昌, 张琼, 桂建峰, 陈丽华. 影响猕猴体外受精与胚胎移植成功率的因素分析[A]. 上海实验动物科学, 2004年02期
- [3] 孙莹璞, 苏迎春, 郭艺红, 乔玉环, 陈秋菊, 刘新贵, 陈爱军. 体外受精-胚胎移植技术在常规超排卵304个治疗周期中的应用[J]. 郑州大学学报: 医学版2002年第一期1-3
- [4] Sun Q, Dong J, Yang W, Jin Y, Yang M, Wang Y, Wang PL, Hu Y, Tsien JZ. Efficient reproduction of cynomolgus monkey using pronuclear embryo transfer technique. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Sep 2;105(35):12956-60