

畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范 NY T 1900-2010

ICS 65.020.30

B 43 NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/ T 1900-2010

畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范

Procedures for cell and embryo cryopreservation of domestic animals

2010-07-08 发布 2010-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

NY/T 1900-2010

前 古目

本标准遵照 GB/T 1. 1-2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部畜牧业司提出。

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:全国畜牧总站。

本标准主要起草人:xiJ 丑生、王志刚、赵俊金、史建民、孟飞、于福清、孙飞舟、邱小田。

I

NY/T 1900-2010

畜禽细胞与胚胎冷冻保种技术规范

1 范围

本标准规定了用于保种的家畜精液、家畜卵母细胞、家畜胚胎和畜禽成纤维细胞冷冻保存技术要求。

本标准适用于家畜精液、家畜卵母细胞、家畜胚胎和畜禽成纤维细胞等遗传物质冷冻保存和检验人库。

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，仅注明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 20557 山羊冷冻精液

NY/T 1234 牛冷冻精液生产技术规程

NY/T 1674 牛羊胚胎质量检测技术规程

3 术语及定义

下列术语和定义适用于本文件。

3. 1

超低温保存 cryopreservation

在液氮中冷冻保存遗传物质的技术。

3. 2

卵母细胞 oocyte

来源于有腔卵泡具有繁殖能力的细胞。

3. 3

成纤维细胞 fibroblast

以畜禽组织或胎儿为材料，体外培养、分离出的梭形或不规则形细胞。胞质近中央处有椭圆形胞

核，胞体→般铺展很开，细胞之间排列疏松，有较大细胞间隙。

3. 4

f 共体 donor

提供精液、卵母细胞、成纤维细胞或胚胎的个体。

4 细胞冷冻保存

4. 1 家畜精液冷冻保存

4. 1. 1 数量

每个品种保存精液不少于 3000 J'fiJ(猪。 .5mL 细管不少于 30000 剂) . 每个品种公畜不少于 10 头，
每个个体保存冻精不少于 300 剂。

4. 1. 2 供体

符合其品种特性、特征;三代以内元亲缘关系，系谱清楚;健康、元传染性疾
病、遗传疾病;有检疫证

NY/T 1900-2010

明。

4. 1 3 剂型

牛、羊、鹿、犬。 25mL 细管，马、驴 0.5 mL 细管；猪。 .5mL 细管或 5mL 细管。

4. 1.4 标记

标明生产单位、品种、供体号和生产日耳目。

4. 1 5 精液冷冻

牛冷冻精液制作应按 NY/T 1234 的规定执行；山羊和绵羊冷冻精液制作按 GB 20557 的规定执

行；其他家畜精液冷冻程序参照 NY/T1234 和 GB 20557 的规定执行；不同家畜精液冷冻稀释液配方见

附录 B。

4. 1.6 质量检测

牛冷冻精液质量检测按 GB 4143 的规定执行；山羊冷冻精液质量检测按 GB 20557 的规定执行；其

他家畜冷冻精液的质量检测 1 按 GB 4143 的规定执行，具体指标要求见附录 C，

4.2 卵母细胞冷冻保存

4.2. 1 数量

每个品种保存卵母细胞不少于 1000 个，牛和绵羊每个品种母畜不少于 50 头，每个个体保存卵母细

胞不少于 20 个；其他家畜每个品种母畜不少于 35 头，每个个体保存卵母

细胞不少于 30 个。

4.2.2 供体

供体要求同 4.1.2,

4.2.3 剂型

0.25mL 细管，每支含卵母细胞不多于 10 个；OPS 玻璃化冷冻每剂不多于 5 个。

4.2.4 标记

标记要求同 4.1.4,

4.2.5 卵母细胞的采集与冷冻

卵母细胞的采集与冷冻参照附录 D。

4.2.6 质量检测 j

卵母细胞冷冻解冻后达到 A 级或 B 级。

4.3 成纤维细胞冷冻保存

4.3.1 数量

公畜禽不少于 10 头(只)，母畜禽不少于 25 头(只)，每个个体体外培养第 3~4 代细胞 6 管，细胞密

度为 1×10^5 个/mL~ 5×10^5 个/mL，

4.3.2 供体

供体要求同 4. 1. 2,

4. 3. 3 剂型

2mL 冻存管。

4. 3. 4 标记

标明生产单位、品种、细胞来源、供体号、性别、培养代数、冻存编号和冻存日期。

4. 3. 5 成纤维细胞的体外培养和冷冻保存

成纤维细胞的体外培养和冷冻保存方法参照附录 E。

4. 3. 6 质量检查

台盼蓝染色检查细胞存活力 80%以上，生长曲线与冷冻前体外生长曲线相近，核型正常，无病原菌和支原体。具体方法参照附录 E。

NY/T 1900-2010

5 胚胎冷冻保存

5. 1 数量

每个品种冷冻保存体内胚胎不少于 200 枚，每个品种公畜不少于 10 头，

母畜不少于 25 头，每个种

公畜配种获得的胚胎数不少于 20 枚，冻前胚胎质量为 A 级。

5. 2 供体

供体要求同 4. 1. 2 。

5. 3 剂型

0.25 mL 细管，每支细管 1 枚~2 枚。

5. 4 标记

标明生产单位、品种、公畜号、母畜号、胚胎发育期、冷冻方法、等级、数量和生产时间。

5. 5 胚胎采集和冷冻保存

胚胎采集和冷冻保存方法参照附录 Fo

5 6 质量检测

牛、羊冷冻胚胎按 NY/T 1674 的规定执行，其他畜种参照 NY/T 1674 的规定执行。

6 品种资料及冷冻保存技术资料

品种资料及冷冻保存技术资料相关记录资料见附录 Ao

NYjT 1900–2010

附录 A

{规范性附录}

品种资料及冷冻保存技术资料

A. 1 品种背景材料

品种形成历史，产地与分布，数量，特征与特性 z 体型外貌、体尺和体重、发育生长、体态结构(包括体尺指数%)、类群、生产性能(产肉或育肥)、泌乳、产毛(绒)等主要产品 and 性能、繁殖性能、杂交效果、血型、生化指标、适应性等种公畜系谱卡片。

A. 2 畜禽精液冷冻保存的技术材料

精液冷冻记录见表 A. 1; 供体母畜超数排卵处理记录见表 A. 2; 胚胎冷冻记录见表 A. 3; 卵母细胞冷冻记录见表 A. 4; 成纤维细胞冷冻记录见表 A. 5 0

表 A. 1 精液冷冻记录表

射精量 原精 稀释 平衡 平衡供体 mL 精液 原精 环境 采精 稀释 前温 平衡 预冷 冻后 冷冻 指 m 冷冻时间 号 颜色 活力 密度 温度 员 倍数 后活

度 后活 时间 时间 活力 数量 袋号 管号 员一次二次合计 个 1 m!. 力 。C 力

卜一一

记录人

表 A.2 供体母畜超数排卵处理记录表

供体号 品种 胎次 上次分娩日期 处理前发情 发情前处理 备注日期

超排时子宫状况 超排时黄体、卵泡状况 检查员

4

NY/T 1900 — 2010

表 A.2 (续)

时期 CIDR FSH 剂量 PG 剂量

超

排

处

理

发 发情日期 发情表现 发情持续时间 勃液情况
情

配种时间 卵泡发育 种畜号 精液活力 输精员
配

种

产地 品牌 规格 批号

FSH

PG

记录人 s

表 A. 3 胚胎冷冻记录表

品种 制作地点： 日期：一一一一→一

供体号 母畜 公畜：

超排情况 黄体数左侧 右侧， 右侧. 其他

可用胚胎数 不可用胚胎数 精未受

总数 等级 总数

2~吕

退化鲜胚数 EM M CM EB BL EXB 细胞

质量 A

评定

B

C

合计

胚胎冷冻保存情况

细管号| 数量 i 阶段| 级别| 小筒号 | 提漏号 i 储存罐号 i 备注

5

NY/T 1900-2010

表 A.3 (续)

胚胎冷冻保存情况

细管号 数量 阶段 级别 小筒号 提漏号 储存罐号 备注

冷冻情况 方法， 冷冻仪型号 •

冲胚员

检胚员

冷冻员

记录员 2

表 A.4 卵母细胞冷冻记录表

口种 制作地点 日期

供体号

超排情况 黄体数左侧 z 右侧 !卵泡数左侧 右侧

可用卵母细胞数 不可用卵母细胞数

质量 A 级 B 级 C 级 D 级评定

合计

保存情况

细管号 数量 级别 小筒号 提漏号 储存罐号 备注

NYjT 1900-2010

表 A.4 (续)

保存情况						
细管号	数量	级别	小筒号	提漏号	储存罐号	备注
冷冻情况 方法 冷冻仪型号						
冲卵员						
检卵 检卵						
情况 冷冻						
记录员 z						

表 A.5 成纤维细胞冷冻记录表

口种 制作地点 日期

供体号

成纤维细

跑来源

代次 密度 数量 备注

成纤维细

胞质量

合计

保存情况

冻存管号 代次 数量 密度 小筒号 提漏号 储存罐号 备注

7

NY/T 1900-2010

表 A.5 (续)

保存情况

冻存管号 代次 数量 密度 小筒号 提漏号 储存罐号 备注

培养员签字

冷冻员签字

记录员

8

NY/T 1900-2010

附录 B

{资料性附录}

精液冷冻稀释液配方

稀释液配方

基础液 葡萄糖 3g 二水柠檬酸 1.4g、双蒸水 100 mL 止

牛

稀释液 基础液 70 mL、卵黄 16 mL、甘油 14mL 青霉素 10 万单位、链霉素 10 万单位

基础液 葡萄糖 4.8g 柠檬酸 2.0 g 双蒸水 100mL，充分溶解；取 85mL
山羊 素。0.048 g、链霉素 0.1 g

稀释液 基础液 48mL、甘油 1 mL

基础液

绵羊

葡萄糖 2.25l 乳糖 8.25 g、蒸馏水 100 mL

稀释液 基础液 75mL、卵黄 20 mL、甘油 5mL、青霉素 10 万单位、链霉素
10 万单位

基础液

马(驴)

乳糖 11l 乙二胺四乙酸(CEDTA)0.1 g、双蒸水 100 mL

稀释液 基础液 75 mL、甘油 5 mL、卵黄 20mL、青霉素 10 万单位、链霉
素 10 万单位

基础液 葡萄糖 8g、乙二胺四乙酸(CEDTA)0.1 g、双蒸水 100mL

猪 基础液 76.5 mL、甘油 3mL、乙二醇 0.5mL、卵黄 20mL、青霉素 10 万
单位、链霉素 10 万单稀释液 位

基础液

鹿

煎糖 12 g、双蒸水 100mL

稀释液 基础液， 75 mL、卵黄 20 且也、甘油 5 mL、青霉素 10 万单位、
链霉素 10 万单位

犬 稀释液 =三(三甲基氨基甲烷 CTris) 1. 2 g、果糖 1. 0g、柠檬酸 1. 36

g、卵黄 20mL、甘油 4mL、青霉素 8 万单位、链霉素 8 万单位

9

NY/T 1900-2010

畜种 剂型 剂量

0.25 mL 细管 二三 0.18 mL

牛

。 .5mL 细管 注 0.40 mL

0.25 mL 细管 二三 0.18mL

水牛

。 .5mL 细管 二三 0.10 mL

山羊 0.25 mL 细管 二三 0.18 mL

绵羊 0.25 mL 细管 注 0.18 mL

5. ω mL 细管 二孔, ω mL

猪

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/837065146026006051>