|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 07.080 |
| CCS |  |

|  |
| --- |
|  |

     地方标准

DB XX/T XXXX—XXXX

医用供体猪 基因鉴定通则

General principles of genetic identification for medical donor pigs

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

       发布

1. 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。

本文件由四川省经济和信息化厅提出。

本文件由四川省经济和信息化厅归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

医用供体猪 基因鉴定通则

* 1. 范围

本文件规定了医用供体猪基因鉴定的总体原则及鉴定方法。

本文件适用于医用供体猪的生产、引种、交付过程中基因鉴定。

基因修饰动物的基因鉴定可参考本文件。

* 1. 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 19495.4-2004 转基因产品检测 核酸定性PCR检测方法

GB/T 19495.7 转基因产品检测抽样和制样

GB/T 30989 高通量基因测序技术规程

GB/T 33681.1 高通量基因测序样本预处理方法 第1部分：动物组织样本预处理

GB/T 35537 高通量基因测序结果评价要求

GB/T 38477 基因表达的测定 蛋白印迹法

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

医用供体猪 medical donor pigs

通过生物工程技术获得，用于提供医疗用途的活器官或生物材料制备的低免疫原性猪及其群体。

基因修饰 genetic modification

利用生物化学方法修改生物遗传物质，使生物产生新性状，修饰方式主要包括转基因、基因编辑介导的基因定点插入和基因敲除3种。

1. 医用供体猪常见基因修饰名称及种类见附录A。

基因整合 gene integration

将特定基因片段导入宿主基因组内的基因修饰方法，包括转基因和基因定点插入。

基因敲除 knock out

将特定基因片段从基因组中去除的基因修饰方式。

基因修饰稳定性检测 genetic modification stability test

通过连续检测不同代数基因修饰动物基因型、基因表达情况来评估基因修饰在动物群体中遗传稳定、及表达稳定的手段。

基因组结构变异 structural variants；SVs

在医用供体猪获得过程中，基因组上发生长片段（ >50 bp）的序列变化和位置关系变化。

1. 基因组结构变异包括长片段序列插入或删除、串联重复、染色体倒位、染色体内部或染色体之间的序列易位、基因拷贝数变异以及嵌合性变异等。

脱靶 off-target

与靶标不同的基因组位置和/或核酸序列。

示例：结合脱靶、切割脱靶、编辑脱靶、序列改变脱靶。

注：编辑脱靶属于非预期编辑。

[来源：ISO 5058:1-2021，3.1.4]

高通量测序 high-throughput sequencing

以一次并行几十万到几百万条核酸分子序列测定和一般读长较短等为标志，适用于DNA的测序

技术。

[来源：35890-2018，3.1]

* 1. 总体原则

基因鉴定是医用供体猪制备过程中重要组成环节，医用供体猪制备、筛选、交付等过程应对其进行基因鉴定。因其用途的特殊性，医用供体猪基因鉴定应同时考虑安全性和有效性，降低因基因修饰技术引入的不可控因素。安全性和有效性评价应结合设计预期、基因修饰类型进行综合评估，鉴定项目可参考表1。

1. 医用供体猪基因鉴定评价项目

| 序号 | 鉴定/检测项目 | 评价类型 |
| --- | --- | --- |
| 1 | 基因型 | 有效性评价 |
| 2 | 基因表达 |
| 3 | 遗传稳定性 | 遗传稳定检测 |
| 4 | 基因组结构变异 | 安全性评价 |
| 5 | 脱靶 |

* 1. 鉴定项目及方法
     1. 有效性评价
        1. 基因型鉴定
           1. 鉴定方法

样本DNA提取可选用符合要求的商业化试剂盒进行提取，也可由实验室自建方法提取。引物设计应在目标基因（拟整合基因/敲除基因靶位）上下游设计引物，参考序列可在NCBI上获取。样本DNA提取后，进行质量检测，符合质量要求的DNA进行PCR扩增，产物经琼脂糖凝胶电泳，观察目标条带判定是否符合预期。判定基因整合见5.1.1.2 a）。判定目标基因的是否敲除，应将符合预期的条带回收，进行Sanger测序（见5.1.1.2 b））。

1. 基因整合鉴定示例见附录B LEA29Y基因有效性检测方法 基因型鉴定部分，基因敲除鉴定示例见附录C GGTA1有效性检测 基因型鉴定部分。
   * + - 1. 结果判定
2. 出现目标条带，则判定基因整合有效。
3. 目标片段测序结果和参考序列比对，靶位产生不为3的倍数碱基的插入和缺失,则判定基因敲除有效。
   * + 1. 基因表达
          1. 检测方法

选取与目标蛋白相结合的特异抗体对医用供体猪组织、细胞水平进行蛋白检测。可采用蛋白免疫印迹法、免疫组化/免疫荧光、酶联免疫吸附技术、流式细胞术等方法进行检测。建议根据不同生产工艺选择合适的检测方法，蛋白免疫印迹法可作为基础方法选用，蛋白免疫印迹法检测及判定方法可参考GB/T 38477。蛋白免疫印迹、免疫组化（荧光）、酶联免疫吸附技术检测示例见附录B LEA29Y基因有效性检测方法 基因表达鉴定部分。流式细胞术技术检测示例见 附录C GGTA1有效性检测 基因表达鉴定部分。

* + - * 1. 蛋白免疫印迹法结果判定

1. 成像图片本底干净，能观察到转印膜均匀的轻微背景轮廓，目标条带清晰且不过曝，即可判定目标蛋白表达。
2. 基因整合类应有目标基因蛋白表达，敲除类应无目标基因蛋白表达。
   * 1. 遗传稳定性检测
        1. 通用要求

医用供体猪自然繁育进行扩大化培养时应符合封闭群或近交系的育种方式，同时应检测基因遗传稳定性。

* + - 1. 检测方法

医用供体猪群体每代个体均应进行基因型鉴定和基因表达检测，方法见5.1，应连续监测3代以上。

* + - 1. 结果分析

医用供体猪基因型鉴定及基因表达检测结果符合基因分离定律和自由组合定律，则认为具有遗传稳定性。

* + 1. 安全性评价
       1. 染色体结构变异和脱靶检测

在基因修饰过程中，存在染色体结构变异和基因修饰脱靶的风险，应对原代个体进行染色体结构变异和脱靶检测，评价安全性。

采集医用供体猪基因修饰前后的血液或组织进行高通量测序，获取医用供体猪基因组序列信息，进行生物信息学分析。样本处理参照GB/T 33681.1的要求执行，测序方法参照GB/T 30989进行，测序质量控制参照GB/T 35537 执行。

* + - 1. 结果分析

1. 染色体结构变异

基因修饰前后，除基因修饰位点外，染色体其他区域基因序列无差异，医用供体猪基因组未发生非预期基因片段插入、序列缺失、倒置、异位，则认为在医用供体猪制备过程中未引入基因安全风险。

1. 脱靶检测

使用Cas-OFFinder（CRISPR RGEN Tools (rgenome.net)）或类似算法模型工具，在猪基因组参考序列内匹配脱靶风险位点，允许sgRNA的靶标序列存在1个～4个错配，医用供体猪脱靶各风险位点序列信息和基因组参考序列一致，则认为没有脱靶，反之则存在脱靶风险。

2. （资料性）  
   医用供体猪常见基因名及修饰类型

|  |  |
| --- | --- |
| 基因敲除 | GGTA1 |
| B4GALNT2/B4GALNT2L |
| CMAH |
| PERV |
| SLA class I or B2M |
| 基因整合 | human membrane cofactor protein transgenic (hCD46-tg) |
| human decay-accelerating factor transgenic (hCD55-tg) |
| human membrane inhibitor of reactive lysis transgenic (hCD59-tg) |
| human complement-regulatory protein C1 inhibitor transgenic (hC1-INH-tg) |
| HLA-E/human beta2-microglobulin transgenic (HLA-E/B2M-tg) |
| human signal regulatory protein alpha transgenic (hCD47-tg) |
| human LEA29Y transgenic (LEA29Y-tg) |
| human CTLA4-Ig transgenic (hCTLA4-Ig-tg) |
| porcine CTLA4-Ig transgenic (pCTLA4-Ig-tg) |
| human dominant-negative mutant class II transactivator transgenic (CIITA-DN-tg) |
| human thrombomodulin transgenic (hTBM-tg) |
| human endothelial protein C receptor transgenic (hEPCR-tg) |
| human tissue factor pathway inhibitor transgenic (hTFPI-tg) |
| human ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1 transgenic (hCD39-tg) |
| human ecto-5′-nucleotidase transgenic (hCD73-tg) |
| human tumour necrosis factor α–induced protein 3 (TNFAIP3) transgenic (A20-tg) |
| human haeme oxygenase 1 transgenic (hHMOX1-tg) |
| soluble human TNFRI-Fc transgenic (shTNFRI-Fc-tg) |

[来源：Reichart B, Cooper DKC, Längin M, Tönjes RR, Pierson RN, Wolf E. Cardiac xenotransplantation: from concept to clinic. Cardiovasc Res. 2023 Feb 3;118(18):3499-3516. doi: 10.1093/cvr/cvac180. PMID: 36461918; PMCID: PMC9897693.]

1. （资料性）  
   LEA29Y基因整合有效性检测方法
   1. LEA29Y基因型鉴定
      1. 原理

以LEA29Y基因为靶位点，设计上下游引物，进行PCR检测。

* + 1. 样品准备
       1. 样品种类

猪耳组织、血液等

* + - 1. 样品采集

耳样采集：在猪出生后尽快采集猪只耳样，以便及时获得新生猪基因型信息。采集耳样前，采样工具及采样部位做好消毒，使用耳标钳在猪耳朵上剪下耳组织，将耳组织放入1.5mL离心管中用于下一步基因组提取。

血液采集：使用紫色采血管，采集猪全血3-5 mL，采样前将猪只保定好，行猪颈静脉采血术。

* + - 1. 样品处理

使用基因组DNA提取试剂盒（简石生物，TD468），提取样品总DNA。用于下一步的PCR实验。

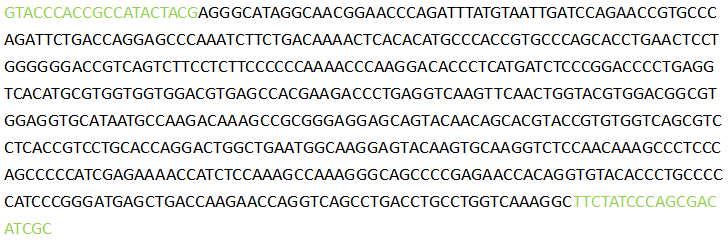
对于耳组织样品，提取总DNA前应对其进行研磨处理，已获得更高的浓度的基因组DNA。对于全血样本，应首先进行破红处理，去除全血中无核的红细胞后，提取白细胞总DNA，以提高基因组DNA质量。

* + 1. PCR反应
       1. 引物设计

针对LEA29Y基因序列，使用引物设计软件或者网站设计特异性引物。本实验设计引物序列如下：

上游引物：5’-gtacccaccgccatactacg-3’；下游引物：5’-gcgatgtcgctgggatagaa-3’

上下游引物位置及扩增片段序列如下：



* + - 1. PCR反应体系和程序
  1. PCR反应体系

|  |  |
| --- | --- |
| 组分名称 | 组分用量 |
| 酶缓冲液 KOD Buffer 2× | 10 μL |
| 上游引物 | 0.5 μL |
| 下游引物 | 0.5 μL |
| 酶 KOD | 0.25 μL |
| 模板 | 100 ng-500 ng |
| ddH2O | 添加到20μL |

* 1. PCR反应程序

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 步骤 | 温度时间 | 循环 |
| 1 | 94℃ 2min | 1 |
| 2 | 98℃ 10s；60℃ 30s；68℃ 30s； | 32 |
| 3 | 12℃ ∞ | 1 |

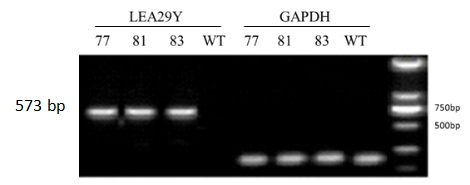
按照表B.1配置PCR反应体系，按照表B.2进行PCR反应程序。

* + - 1. PCR扩增产物鉴定

使用1%的琼脂糖，电压120V，电泳15-20分钟，在凝胶成像系统中检测。

* + 1. 结果判定

如果泳道中出现573bp的条带，则说明PCR结果阳性，LEA29Y基因整合到了改猪基因组上。如图B.1所示，LEA29Y实验组出现573bp的条带，而野生型对照组没有出现573bp的条带，说明LEA29Y在DNA水平上整合成功。

* 1. LEA29Y PCR鉴定结果
  2. LEA29Y基因型表达鉴定
     1. 原理

使用Western Blot、免疫组化和免疫荧光等免疫学方法，利用LEA29Y蛋白与LEA29Y抗体的特异性结合，检测抗体酶标物或标记荧光来间接鉴定LEA29Y的表达。

* + 1. Western Blot 方法基因表达鉴定。
       1. 样品准备

取适量猪胰腺组织样品，加入100μl RIPA裂解液，冰上裂解30min。获得胰腺组织蛋白液。用BCA蛋白浓度测定试剂盒检测胰腺蛋白浓度。

* + - 1. Western Blot实验

按照如下步骤进行Western Blot实验：

（1）蛋白上样量为30 ug，5× SDS loading buffer蛋白变性上样缓冲液为蛋白样品体积的1/4，100℃，10min使蛋白变性；

（2）制备SDS分离胶和浓缩胶；

（3）统一上样30 ug，将样品加入SDS-PAGE胶齿中。

（4）恒压60V电泳45min，后120V电泳1.5h；

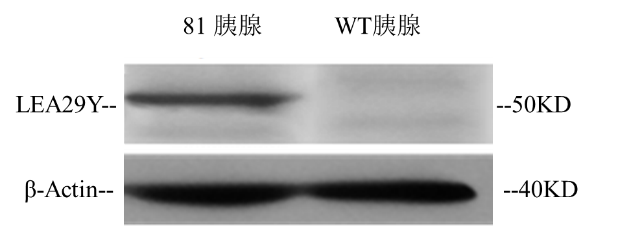
（5）PVDF膜用甲醇浸泡2 min，ddH2O浸泡3 min，1× Transfer Buffe浸泡30min，滤纸和海绵直接置于1× Transfer Buffe浸泡30min

（6）将海绵、滤纸、凝胶、PVDF 膜按顺序放好，恒流 200A 电泳 1.5h。

（7）将膜取出于 TB ST 缓冲液中清洗后，加入5% 脱脂奶粉，室温下摇床上封闭 2h;TBST缓冲液漂洗三次，每次5min;于5% 脱脂奶粉稀释的一抗溶液(1:1000)中4°C过夜; TBST 缓冲液洗脱三次，每次 5 min; 加入 TBST 稀释的二抗(1:1500)室温摇床孵育 1h;TBST缓冲液漂洗一次，每次5min。

（8）辣根过氧化物显色液2m1于膜上，Tanon 5200全自动化学发光仪显影。

* + - 1. 结果判定



* 1. Western Blot检测结果示例图

如图B.2所示，如果实验组在预期蛋白大小的位置出现了明显条带，而野生型对照组在该位置无条带，则说明改猪LEA29Y基因成功表达。

* + 1. 免疫组化和免疫荧光方法基因表达鉴定
       1. 试剂

LEA29Y一抗，兔抗人IgG（Abcam，ab6759，USA)；胰岛素一抗，鼠抗猪胰岛素抗体（Abcam，ab7760，USA)；山羊抗兔鼠通用二抗(DA-KO, Denmark)；羊抗兔IgG(FITC) (Abcam，ab6717，USA)；羊抗鼠IgG (Alexa Fluor® 594) (Abcam，ab150160，USA)；OCT包埋剂（Electron Microscopy Sciences，USA)；；

* + - 1. 样品准备

将采集的转基因猪的胰腺组织在OCT（Electron Microscopy Sciences，Hatfield，PA，USA）中包埋并冷冻，并储存在-70℃。用冰冻切片机作冷冻切片（6μm）用于免疫组化和免疫荧光染色。

* + - 1. 免疫组化实验

（1）固定:取出切片，室温放置5mins。用4%的多聚甲醛PBS溶液室温固定15mins，PBS冲洗次(冲洗可以采用侧斜淋洗，也可至于平皿中摇晃)。打孔:如果是需要染细胞内的蛋白，用曲拉通 (TritonX-100)打孔: 组织样品浸于含0.25%TritonX-100的 PBS 中10mins，之后用PBS 洗3次，每次5mins。如果是染膜蛋白的，不需要曲拉通打孔。

（2）封闭:将组织置于含1%BSA的PBST 溶液中30mins，封闭非特异性粘合的抗体。对于多聚甲醛固定并进行免疫荧光的样本，在封闭缓冲液中加入03mol/L的甘氨酸。

（3）孵化:组织样本浸于一抗(用含1%BSA的PBST稀释)，放于湿盒中，室温1h或4C过夜用PBS洗3次每次5mins。浸入二抗(1%BSA的PBST溶液)，室温1h。PBS洗3次，每次5mins。

（4）染色:漫入 0.1-lug/mL的 DAPI或 Hoechst 中，染色1min，PBS 淋洗三次。

（5）封片:用盖玻片封片，指甲油固定，保存与4或-20C。

* + - 1. 免疫荧光实验

（1）冰冻切片取出，室温放置使其干燥后，用冷丙酮于4℃固定10分钟；

（2）切片用0.01MPBS清洗后加入1.2%双氧水作用30分钟，以除去非特异染色；

（3）0.01M PBS 清洗，洗3次每次10分钟；

（4）0.3%Triton X-100作用30分钟；

（5）加入以抗体稀释液(含1%BSA的0.01M PBS，pH7.4)稀释至作浓度的一抗，4过夜；

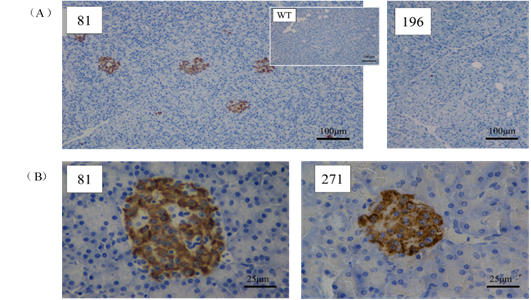
（6）0.01M PBS清洗，洗3次，每次10分钟；

（7）加入荧光抗体IgG (Alexa Fluor® 594)(1:100 )或 FITC-IgG(1: 100)，室温育2小时；

（8）0.01M PBS清洗，3次10 分钟；

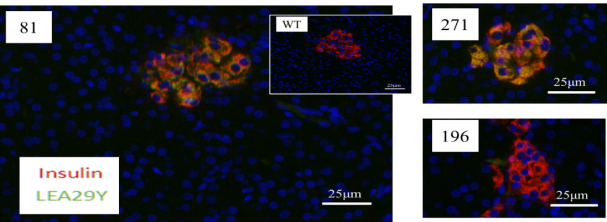
（9）缓冲甘油封片，荧光显微镜下观察

* + - 1. 结果判定



* 1. 免疫组化结果示例图

如图B.3所示，如果实验组视野中出现如图所示结果，则判断为LEA29Y基因表达鉴定免疫组化阳性。



* 1. 免疫荧光结果示例图

如图B.4所示，如果实验组视野中出现如图所示结果（LEA29Y标记的是绿色荧光，胰岛细胞标记的红色荧光），则判断为LEA29Y基因表达鉴定免疫荧光阳性。

* + 1. ELISA方法鉴定基因表达
       1. 试剂耗材

10 mL注射器，促凝采血管、1.5mL离心管、人淋巴毒性相关抗原4（CTLA4）ELISA检测试剂盒

* + - 1. 样品准备

随机挑选4头LEA29Y转基因猪（编号77、221、266、269）和月龄相近的5头野生型猪，禁食16h，清醒状态下用10 mL注射器从巴马猪的前腔静脉采集8 mL全血。取6ml保存在促凝采血管内，低速离心10 min后吸取上清分离血清，分装到1.5ml离心管中，用于下一步ELISA实验

* + - 1. ELISA实验步骤

检测方法如下：

1) 按说明书，倍比稀释标准品，其稀释后标准品终浓度依次为：1ng/ml、0.5 ng/ml、0.25 ng/ml、0.125 ng/ml、0.0625 ng/ml、0 ng/ml；

2) 上样：分设标准孔（依次加入稀释后的标准品50μL，不加酶标抗体、其余各环节同待测样品孔）、空白孔（不加样品、酶标抗体、酶标试剂，其余各环节同待测样品孔）、待测样品孔。向待测样品孔内加入待测血清（4头转基因猪血清及5头野生型猪血清）样品40μL，再加10μL CTLA4酶标抗体。上样时避免触及孔壁，轻摇混匀。

3) 温育：封板膜封好微孔板，在恒温箱内37℃温育0.5h。

4) 洗涤：揭掉封板膜，弃掉液体，甩干，加入洗涤液，静止30s弃掉液体，重复5次，拍干。

5) 加酶：每孔加入酶标试剂50μL，空白孔除外。

6) 温育：操作同3）。

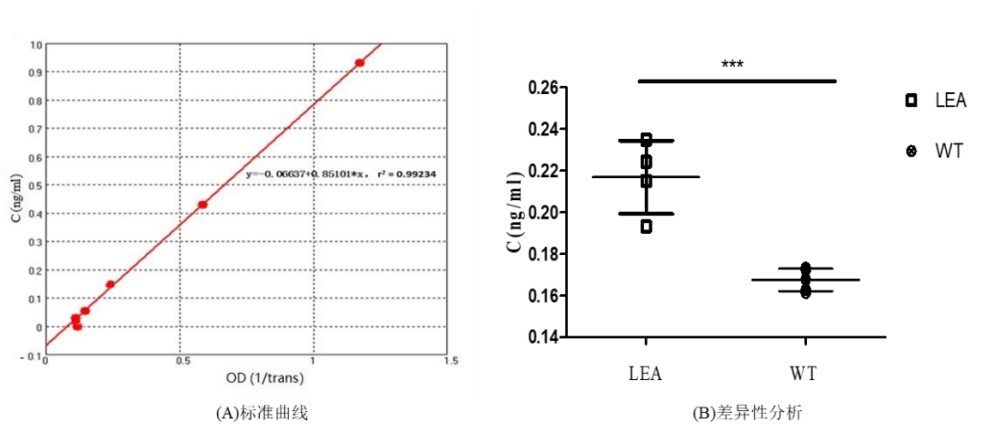
7) 洗涤：操作同4）。

8) 显色：向孔内先后加入显色试剂A和B各50μL，轻轻震荡混匀，37℃避光15min。

9) 终止：每孔加入50μL终止液，终止反应。

10) 测定：用空白孔校0，450nm波长依次测量各孔的OD值

* + - 1. 检测结果计算

根据标准物的浓度为横坐标，OD值为纵坐标，绘制标准曲线，由样品的OD值代入标准曲线查出相应浓度。标准曲线及两种猪检测结果如图B.5所示，结果显示用ELISA对采集血样检测，在胰岛特异表达LEA29Y转基因猪和野生型猪血液内均检测到LEA29Y，但转基因猪中检测到的值高于野生型猪，差异显著

* 1. ELISA检测标准曲线及猪血清样品检测结果

1. （资料性）  
   GGTA1基因敲除及表达有效性检测方法
   1. GGTA1基因型鉴定
      1. 原理

以GGTA1基因为靶序列，建立PCR检测方法,并结合PCR产物sanger测序结果，判断GGTA1基因敲除类型。

* + 1. 样品准备
       1. 样品种类

猪耳组织、血液等

* + - 1. 样品采集

耳样采集：在猪出生后尽快采集猪只耳样，以便及时获得新生猪基因型信息。采集耳样前，采样工具及采样部位做好消毒，使用耳标钳在猪耳朵上剪下耳组织，将耳组织放入1.5mL离心管中用于下一步基因组提取。

血液采集：使用紫色采血管，采集猪全血3-5 mL，采样前将猪只保定好，行猪颈静脉采血术。

* + - 1. 样品处理

使用基因组DNA提取试剂盒（简石生物，TD468），提取样品总DNA。用于下一步的PCR实验。

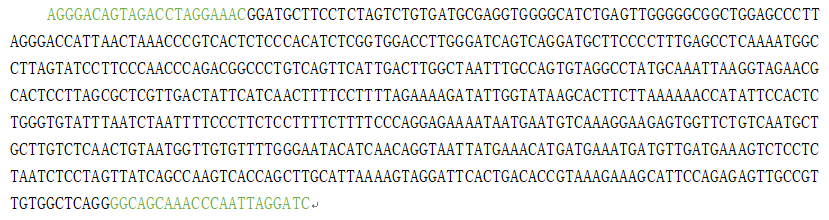
对于耳组织样品，提取总DNA前应对其进行研磨处理，已获得更高的浓度的基因组DNA。对于全血样本，应首先进行破红处理，去除全血中无核的红细胞后，提取白细胞总DNA，以提高基因组DNA质量。

* + 1. PCR反应
       1. 引物设计

针对GGTA1基因编辑位点序列，使用引物设计软件或者网站设计特异性引物。本实验设计引物序列如下：

上游引物：5’-AGGGACAGTAGACCTAGGAAAC-3’；下游引物：5’-GATCCTAATTGGGTTTGCTGCC-3’

引物在GGTA1基因所在的位置如图B.6所示。



* 1. GGTA1编辑位点处基因序列
     + 1. PCR反应体系和程序
  2. PCR反应体系

|  |  |
| --- | --- |
| 组分名称 | 组分用量 |
| 酶缓冲液 KOD Buffer 2× | 10 μL |
| 上游引物 | 0.5 μL |
| 下游引物 | 0.5 μL |
| 酶 KOD | 0.25 μL |
| 模板 | 100 ng-500 ng |
| ddH2O | 添加到20μL |

* 1. PCR反应程序

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 步骤 | 温度时间 | 循环 |
| 1 | 94℃ 2min | 1 |
| 2 | 98℃ 10s；  60℃ 30s；  68℃ 30s； | 32 |
| 3 | 12℃ ∞ | 1 |

按照表B.3配置PCR反应体系，按照表B.4进行PCR反应程序。

* + - 1. PCR扩增产物鉴定

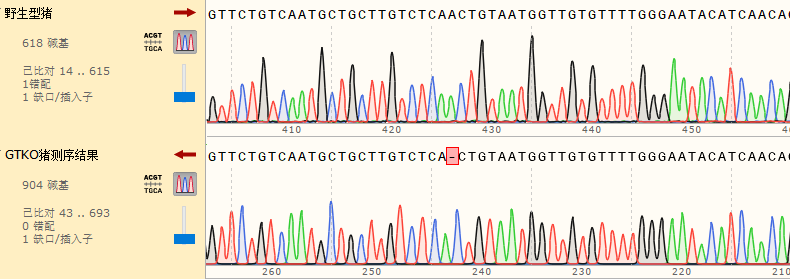
使用1%的琼脂糖，电压120V，电泳15-20分钟，在凝胶成像系统中检测。

* + - 1. PCR产物sanger测序

对PCR产物进行sanger测序，测序结果与GGTA1编辑位点处的参考序列比对，判断GGTA1基因是否敲除及具体的敲除类型。

* + 1. 结果判定

如果泳道中出现652bp的条。且目标片段测序结果和参考序列比对，靶位产生不为3的倍数碱基的插入和缺失,则判定基因敲除有效。示例结果如图B.7所示，结果显示其在编辑位点处有1bp的缺失，产生移码突变，证明GGTA1基因在基因层面敲除成功。



* 1. GGTA1编辑位点处测序结果
  2. GGTA1基因表达鉴定
     1. 原理

GGTA1基因是体内合成α-gal抗原的关键酶，敲除GGTA1基因后，α-gal抗原表达量显著下降，因此可以使用流式细胞术，通过标记α-gal抗原，检测PBMC中α-gal抗原表达量，来反映GGTA1的表达情况。

* + 1. 试剂

PBMC分离液，BS-IB4

* + 1. 样品采集

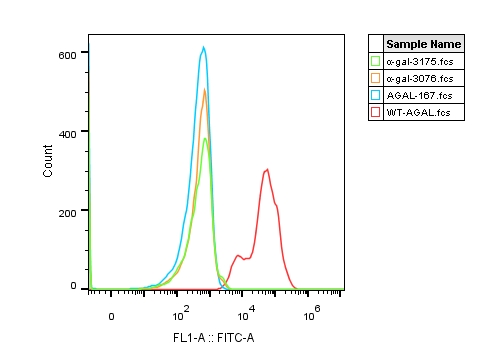
使用紫色采血管采集猪全血，

* + 1. 流式细胞术

使用PBMC分离液分离猪外周血淋巴细胞（PBMC），经BS-IB4孵育，通过流式细胞仪完成猪α-gal的检测。

* + - 1. 结果判定

如图B.8所示GTKO猪167、3076、3175的PBMC标记的荧光强度显著低于野生型猪，因此可判定GTKO猪167、3076、3175无α-gal抗原，说明GGTA1基因不表达，敲除成功。



* 1. α-gal抗原流式细胞术检测结果

参考文献

[1] 《基因修饰细胞治疗产品非临床研究与评价技术指导原则》

[2] 《农业转基因生物安全评价管理办法》

[3] ISO 5058:1-2021 Biotechnology-Genome editing- Part1: Vocabulary。

[4] GB/T 35890-2018 高通量测序数据序列格式规范。

[5] Reichart B,etc. Cardiac xenotransplantation: from concept to clinic. Cardiovasc Res. 2023 Feb 3;118(18):3499-3516.

