

T/GXAS

团 体 标 准

T/GXAS 1152—2025

人类辅助生殖技术实验室 卵母细胞/胚胎 冷冻解冻技术操作规程

Technical code of practice for oocyte/embryo freezing and thawing in
human assisted reproductive technology laboratory

2025 – 11 – 28 发布

2025 – 12 – 04 实施

广西标准化协会 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 人员配备及场所准备 1

5 设备、试剂及耗材配备 1

 5.1 设备 1

 5.2 试剂 1

 5.3 耗材 1

6 卵母细胞冷冻解冻操作 1

 6.1 冷冻 1

 6.2 解冻 2

7 卵裂期胚胎冷冻解冻 2

 7.1 冷冻 2

 7.2 解冻 3

8 囊胚期胚胎冷冻解冻操作 3

 8.1 冷冻 3

 8.2 解冻 4

9 操作记录 4

参考文献 5

前 言

本文件参照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。

本文件由广西医学会提出、归口并宣贯。

本文件起草单位：南宁市第二人民医院、山东中医药大学附属医院、武汉大学人民医院、广东省第二人民医院、华中科技大学同济医学院附属协和医院、南昌大学第一附属医院、宜春市妇幼保健院、广西医科大学第一附属医院、广西壮族自治区生殖医院、贵港市人民医院、玉林市妇幼保健院、桂平市人民医院、右江民族医学院附属医院、柳州市妇幼保健院、桂林医科大学第一附属医院。

本文件主要起草人：许常龙、李春苑、杨华、刘博、牛向丽、黄茜、陆清芳、翟丹梅、杨曾瑜、谢琴、蒋满喜、江莉、舒德峰、李荣、聂玲、宋景艳、于艺、王雅琴、段超群、胡林林、杨其、张顺、王俊婷、欧湘红、覃爱平、朱露露、刘冠良、马小星、潘晓、许定飞、陈自洪、邓志华、邹彦、丘苗苗、曾建伟、韦永全、韦雅环、吴雨茵、韦秋敢、吴卓、谭庆英、张剑、邓李文、周玲、李宁、史秋雯、廖兰英、朱艺萍、朱俞欢、曾江辉、周元圆、苑丽华、相珊、曹现岭、郭子珍、牟珍妮、张良、刘聪、邓星、罗小琼、季琳。

人类辅助生殖技术实验室 卵母细胞/胚胎冷冻解冻技术操作规程

1 范围

本文件界定了人类卵母细胞/胚胎玻璃化冷冻解冻的术语和定义，规定了人员配备、场所准备、设备、试剂及耗材配备、卵母细胞、卵裂期胚胎及囊胚期胚胎冷冻解冻的操作指示，描述了操作过程信息的追溯方法。

本文件适用于人类辅助生殖技术实验室进行的卵母细胞/胚胎玻璃化冷冻解冻技术操作。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

玻璃化冷冻 vitrification

用高浓度的冷冻保护剂溶液置换细胞内水分，经超高速降温由液态转化为玻璃状非晶体化固体状态，从而避免细胞损伤的技术。

4 人员配备及场所准备

符合《人类辅助生殖技术规范》的规定。

5 设备、试剂及耗材配备

5.1 设备

包括培养箱、超净台、体式显微镜、恒温设备（热板、恒温试管架、水浴锅）、计时器、液氮罐、冰箱、移液器等。

5.2 试剂

选择符合国家规定的玻璃化冷冻液（包括平衡液和冷冻液）、玻璃化解冻液（包括解冻液、稀释液、基础液1和基础液2）、受精培养液和胚胎培养液等。

5.3 耗材

包括但不限于冷冻皿、解冻皿、吸管、吸头、镊子、剥卵针、液氮桶/盒、冷冻支架/套管、冷冻载体等耗材。

6 卵母细胞冷冻解冻操作

6.1 冷冻

6.1.1 操作前准备

6.1.1.1 试剂：平衡液和冷冻液。

6.1.1.2 冷冻载体：玻璃化冷冻载体，载体标注的患者信息、卵母细胞编号及个数，记录载体颜色。

6.1.1.3 套管：标注的患者信息、储存罐号、冷冻日期、套管使用便于识别的不同颜色。

6.1.1.4 冷冻皿：标注患者信息。

6.1.1.5 液氮桶/盒：注入的液氮量在载体装配操作时漫过载体。

6.1.1.6 取 500 μL 平衡液和 800 μL 冷冻液置于冷冻皿，在超净台内复温至室温，按照要求制作不同的微滴。

6.1.2 实施操作

6.1.2.1 将卵母细胞放到平衡液中静置 15 min~20 min，期间卵母细胞收缩后恢复。

6.1.2.2 将卵母细胞转入冷冻液，在其中轻缓转移至少 3 处，然后把卵母细胞放到载体前端，立刻浸入液氮，本步骤在 1 min 内完成。

6.1.2.3 冷冻载杆套紧杆帽后放入套管，将冷冻套管放入液氮罐中相应的位置中冻存。

6.1.3 注意事项

6.1.3.1 单人单皿，双人核对患者信息，最后操作者和核对者再次核对患者信息与套管标注的一致。

6.1.3.2 最少量的冷冻液在载体前端形成微滴。

6.1.3.3 一支载体冻存 \leq 3 枚卵母细胞。

6.1.3.4 不反复冻融。

6.1.3.5 冷冻皿及时盖上皿盖。

6.1.3.6 冷冻全程在室温进行。

6.2 解冻

6.2.1 操作前准备

6.2.1.1 试剂：解冻液、稀释液和基础液。

6.2.1.2 解冻皿：标注患者信息。

6.2.1.3 玻璃化冷冻液氮桶：注入的液氮量在载体装配操作时漫过载体。

6.2.1.4 培养皿：受精培养液。

6.2.2 实施操作

6.2.2.1 500 μL 解冻液复温至 37 $^{\circ}\text{C}$ ，稀释液、基础液 1 和基础液 2 各 500 μL 复温至室温。

6.2.2.2 在液氮中拔去载体帽，将载体前端插入解冻液中轻摇，让卵母细胞脱落，本步骤在 1 min 内完成。

6.2.2.3 将卵母细胞转入稀释液底部，静置 3 min。

6.2.2.4 将卵母细胞转入基础液 1 底部，轻缓清洗，静置 5 min。

6.2.2.5 将卵母细胞转入基础液 2 底部，轻缓清洗，静置 5 min。

6.2.2.6 将卵母细胞移入培养皿，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、6% CO_2 培养箱培养。

6.2.3 注意事项

6.2.3.1 单人单皿，解冻前双人核对患者信息、冷冻日期、存放具体位置、冷冻套管颜色、载体颜色以及需解冻卵母细胞的序号等。

6.2.3.2 不反复冻融。

6.2.3.3 解冻皿及时盖上皿盖。

7 卵裂期胚胎冷冻解冻

7.1 冷冻

7.1.1 操作前准备

7.1.1.1 试剂：平衡液和冷冻液。

7.1.1.2 冷冻载体：玻璃化冷冻载体，载体标注的患者信息、胚胎发育天数、胚胎编号及个数，记录载体颜色。

7.1.1.3 套管：标注的患者信息、储存罐号、冷冻日期、套管使用便于识别的不同颜色。

7.1.1.4 冷冻皿：标注患者信息。

7.1.1.5 液氮桶/盒：注入的液氮量在载体装配操作时漫过载体。

7.1.2 实施操作

7.1.2.1 500 μL 平衡液和 800 μL 冷冻液在超净台内复温至室温。

7.1.2.2 将胚胎放到平衡液中静置 6 min~10 min，期间胚胎收缩又恢复。

7.1.2.3 将胚胎转入冷冻液，在其中轻缓转移至少 3 处，然后把胚胎放到载体前端，立刻浸入液氮，本步骤在 1 min 内完成。

7.1.2.4 冷冻载杆套紧杆帽后放入套管，将冷冻套管放入液氮罐中相应的位置中冻存。

7.1.3 注意事项

7.1.3.1 单人单皿，双人核对患者信息，最后操作者和核对者再次核对患者信息与套管标注的一致。

7.1.3.2 最少量的冷冻液在载体前端形成微滴。

7.1.3.3 一支载体冻存 \leq 2 枚胚胎。

7.1.3.4 不反复冻融。

7.1.3.5 冷冻皿及时盖上皿盖。

7.1.3.6 冷冻全程在室温进行。

7.2 解冻

7.2.1 操作前准备

7.2.1.1 试剂：解冻液、稀释液和基础液。

7.2.1.2 解冻皿：标注患者信息。

7.2.1.3 玻璃化冷冻液氮桶：注入的液氮量在载体装配操作时漫过载体。

7.2.1.4 培养皿：胚胎培养液。

7.2.2 实施操作

7.2.2.1 500 μL 解冻液复温至 37 $^{\circ}\text{C}$ ，稀释液、基础液 1 和基础液 2 各 500 μL 复温至室温。

7.2.2.2 在液氮中拔去载体帽，将载体前端插入解冻液中轻摇，让胚胎脱落，本步骤在 1 min 内完成。

7.2.2.3 将胚胎转入稀释液底部，静置 3 min。

7.2.2.4 将胚胎转入基础液 1 底部，轻缓清洗，静置 5 min。

7.2.2.5 将胚胎转入基础液 2 底部，轻缓清洗，静置 5 min。

7.2.2.6 将胚胎移入培养皿，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、6% CO_2 培养箱培养。

7.2.3 注意事项

7.2.3.1 单人单皿，解冻前双人核对患者信息、冷冻日期、存放具体位置、冷冻外套管颜色、载体颜色以及需解冻胚胎的序号等。

7.2.3.2 不反复冻融。

7.2.3.3 解冻皿及时盖上皿盖。

8 囊胚期胚胎冷冻解冻操作

8.1 冷冻

8.1.1 操作前准备

8.1.1.1 试剂：平衡液和冷冻液。

8.1.1.2 冷冻载体：玻璃化冷冻载体，载体标注的患者信息、囊胚发育天数、胚胎编号及个数，记录载体颜色。

8.1.1.3 套管：标注的患者信息、储存罐号、冷冻日期、操作人员名字，套管使用便于识别的不同颜色。

8.1.1.4 冷冻皿：标注患者信息。

8.1.1.5 液氮桶/盒：注入的液氮量在载体装配操作时漫过载体。

8.1.1.6 使用激光法致囊胚皱缩。

8.1.2 实施操作

8.1.2.1 500 μL 平衡液和 800 μL 冷冻液在超净台内复温至室温。

8.1.2.2 将囊胚放到平衡液中静置 10 min~15 min，期间囊胚收缩又恢复。

8.1.2.3 将囊胚转入冷冻液，在其中轻缓转移至少 3 处，然后把囊胚放到载体前端，立刻浸入液氮，本步骤在 1 min 内完成。

8.1.2.4 冷冻载杆套紧杆帽后放入套管，将冷冻套管放入液氮罐中相应的位置中冻存。

8.1.3 注意事项

8.1.3.1 单人单皿，双人核对患者信息，最后操作者和核对者再次核对患者信息与套管标注的一致。

8.1.3.2 最少量的冷冻液在载体前端形成微滴。

8.1.3.3 一支载体冻存 1 枚囊胚。

8.1.3.4 不反复冻融。

8.1.3.5 冷冻皿及时盖上皿盖。

8.2 解冻

8.2.1 操作前准备

8.2.1.1 试剂：解冻液、稀释液和基础液。

8.2.1.2 解冻皿：标注患者信息。

8.2.1.3 玻璃化冷冻液氮桶：注入的液氮量在载体装配操作时漫过载体。

8.2.1.4 培养皿：胚胎培养液。

8.2.2 实施操作

8.2.2.1 500 μL 解冻液复温至 37 $^{\circ}\text{C}$ ，稀释液、基础液 1 和基础液 2 复温各 500 μL 至室温。

8.2.2.2 在液氮中拔去载体帽，将载体前端插入解冻液中轻摇，让囊胚脱落，本步骤在 1 min 内完成。

8.2.2.3 将囊胚转入稀释液底部，静置 3 min。

8.2.2.4 将囊胚转入基础液 1 底部，轻缓清洗，静置 5 min。

8.2.2.5 将囊胚转入基础液 2 底部，轻缓清洗，静置 5 min。

8.2.2.6 将囊胚移入培养皿，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、6% CO_2 培养箱培养。

8.2.3 注意事项

8.2.3.1 单人单皿，解冻前双人核对患者信息、冷冻日期、存放具体位置、冷冻外套管颜色、载体颜色以及需解冻囊胚的序号等。

8.2.3.2 不反复冻融。

8.2.3.3 解冻皿及时盖上皿盖。

9 操作记录

对卵母细胞/胚胎冷冻解冻技术操作的试剂及耗材选择以及卵母细胞、卵裂期胚胎、囊胚期胚胎冷冻解冻过程进行记录并长期保存。

参 考 文 献

- [1] YY/T 0995 人类辅助生殖技术用医疗器械 术语和定义
- [2] 卫生部关于修订人类辅助生殖技术与人类精子库相关技术规范、基本标准和伦理原则的通知（卫科教发〔2003〕176号）
- [3] 中国医师协会生殖医学专业委员会. 人类卵母细胞与胚胎玻璃化冷冻中国专家共识(2023年)[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2023, 43(9):879-886.
- [4] 孙莹璞, 邓成艳, 等. 人类辅助生殖技术医生必读[M]. 北京: 人民卫生出版社. 2023. 2
- [5] 杨爱军, 牛焕付, 李晓云, 王雪楠, 等. 人类辅助生殖技术评审手册[M]. 北京: 科学出版社. 2024. 11



中华人民共和国团体标准
人类辅助生殖技术实验室 卵母细
胞胚胎冷冻解冻技术操作规程
T/GXAS 1152—2025
广西标准化协会统一印制
版权专有 侵权必究