

刘超楠, 闫丽红, 王婧, 等. 基因编辑技术在实验大动物中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(2): 175-180.

Liu CN, Yan LH, Wang J, et al. Application of gene-editing technique in large experimental animals [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(2): 175-180.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.02.019

基因编辑技术在实验大动物中的应用

刘超楠¹, 闫丽红², 王婧¹, 沈艳华¹, 潘明明¹, 周正宇^{1*}

(1. 苏州大学苏州医学院实验动物中心, 江苏 苏州 215000;

2. 黑龙江省农产品和兽药饲料技术鉴定站, 哈尔滨 150000)

【摘要】 近年来, 随着分子生物学技术的飞速发展, 基因编辑作为能够进行基因组修饰的手段, 因具有高效性、精确性和灵活性而被用于实验动物模型的建立。本文主要概述了最新的基因编辑技术在实验动物猪、非人灵长类动物以及实验动物犬等动物模型的构建和应用情况, 为基因编辑技术在实验大动物的广泛应用和深入研究提供理论参考, 从而更好地模拟人类疾病, 研究生物医学和人类复杂疾病的潜在发病机制。

【关键词】 基因编辑; 实验动物; 模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 02-0175-06

Application of gene-editing technique in large experimental animals

LIU Chaonan¹, YAN Lihong², WANG Jing¹, SHEN Yanhua¹, PAN Mingming¹, ZHOU Zhengyu^{1*}

(1. Laboratory Animal Center of Suzhou Medical College, Soochow University, Suzhou 215000, China.

2. Heilongjiang Agricultural Products and Veterinary Feed Technology Appraisal Station, Harbin 150000)

【Abstract】 Recent rapid developments in molecular biological techniques have allowed the use of gene editing, as a means of genome modification, for the establishment of experimental animal models, with high efficiency, accuracy, and flexibility. This article mainly summarizes the construction and application of the latest gene-editing techniques in animal models, including pigs, non-human primates and dogs. It provides a theoretical reference for the application and in-depth study of gene-editing techniques in large experimental animals, which may better simulate human diseases, and for further studies of the potential pathogenesis of biomedical and human complex diseases.

【Keywords】 gene editing; experimental animals; model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

随着全基因组测序技术的快速发展, 基因编辑技术已经成为生物医学领域的重要工具。目

前在农业、医学和生物技术等众多领域, 基因编辑技术都发挥了巨大的作用。基因编辑技术能

[作者简介] 刘超楠 (1992—), 女, 硕士, 助理实验师, 研究方向: 实验动物研究。E-mail: cnliu@suda.edu.cn

[通信作者] 周正宇 (1973—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 动物模型与比较医学。E-mail: zacharyzhou@suda.edu.cn

够精确定位和修饰生物体内的内源性基因,在生物医学研究领域有着广泛的应用。自 21 世纪以来,基因编辑技术突飞猛进,成簇的规律间隔短回文重复序列及其相关系统 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/Cas endonucleases, CRISPR/Cas) 作为一种新型的基因编辑技术诞生,使基因组编辑手段获得了质的飞跃^[1]。大动物与人有着密切的遗传关系,在生理特性和疾病的病理过程上有许多相似之处,是研究人类疾病和异种移植的重要模型。本文主要概括了基因编辑技术在实验动物猪、非人灵长类动物、实验动物犬中的最新应用,为我国实验大动物的相关研究提供参考。

1 在实验动物猪中的应用

随着生命科学、医学研究的快速发展,人们发现猪在生理构造、器官的组成以及生理代谢等方面和人有着高度相似性,因此将猪打造成模式动物、构造基因编辑猪模型成为近年来的热点。世界第一家从事基因工程猪的制备、模式猪遗传物质保存以及病原微生物检测、净化的官方机构是美国国家猪资源研究中心,该机构保存了近 60 余种基因工程猪品系,是世界上最大的人类疾病模型猪种质资源信息库。与其他国家相比,我国起步稍晚,首次引起重视是“十二五”期间,国家倡导优先进行模式动物表型与遗传研究国家重大科技基础设施建设,该设施于 2022 年开始启用,是世界上第一个猪模型动物的科学设施。该设施可用于医学等相关领域研究成果的转化和应用,为动物育种、人类疾病治疗、医药研发、异种器官移植等研究提供了很好的平台。

与啮齿类动物相比,猪的生理生化指标、器官大小等方面更贴近于人类,因此人们将重症联合免疫缺陷的研究放在猪的免疫系统上,利用基因编辑技术制作基因编辑猪模型。重症联合免疫缺陷 (severe combined immune deficiency model, SCID) 模型是目前临床医学广泛应用的动物模型,以前多采用小鼠作为动物模型,目前也可用猪制作该疾病模型。王清未等^[2]利用 CRISPR/Cas12i 基因编辑系统对猪胚胎进行编辑,成功获得 *RAG1*^{-/-} 基因敲除的 SCID 模型猪,为后续大规模制备 *RAG1*^{-/-} 模型猪提供保障。由于 CRISPR/

Cas9 基因编辑产生的后代多为嵌合体,因此获得可以稳定遗传的后代变得尤为重要。2023 年 2 月 27 日中国农业科学院深圳农业基因组研究所获得了 3 个遗传稳定的猪疾病模型新品系,该团队早在 2016 年就与北京畜牧兽医研究所合作,利用多基因精准编辑技术获得 6 头 *ApoE* 和 *LDLR* 双基因缺失猪,目前这 3 个新品系是国家首次通过鉴定的基因编辑猪疾病模型^[3]。猪一旦感染传染性疾病容易造成猪群大面积生病和死亡,因此利用基因编辑技术提高猪对传染病的抗性有助于畜牧业的发展。猪 δ 冠状病毒 (porcine deltacoronavirus, PDCoV) 是一种新发的猪肠道冠状病毒,可引起仔猪腹泻,并具有感染人类的风险,但目前尚无有效的预防或控制 PDCoV 感染的措施。2020 年江苏省农科院李彬研究团队与吉林大学欧阳红生团队合作,应用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术培育氨肽酶 N (aminopeptidase N, APN) 基因编辑仔猪,结果显示病毒攻击的嵌合 APN 新生仔猪病毒含量降低,肠道组织中病变明显减少,并且无腹泻现象,因此表明 APN 基因编辑的仔猪能有效抵御 PDCoV 感染^[4]。CRISPR/Cas9 技术主要作用于 DNA 双链使其断裂,但容易引起染色体结构异常或缺失,导致细胞死亡,而且有些疾病是由单核苷酸的改变产生的,因此单碱基编辑技术进入人们的视野。科学家们陆续开发出多种 DNA 单碱基编辑器,目前所有碱基间相互转换的编辑器均已被开发出来。胞嘧啶碱基编辑器 (cytosine base editor, CBE) 可以在不产生 DNA 双链断裂的情况下,将密码子 (CAA、CAG、CGA 或 TGG) 精准转换成终止密码子 (TAG、TAA 或 TGA) 来阻止翻译,从而具有更高的准确性和生物安全性。肌肉生长抑制素 (myostatin, *MSTN*) 主要存在于骨骼肌中,是肌肉生长的负调控因子,调节肌肉组成和蛋白基因的表达。研究发现,敲除机体内的 *MSTN* 基因可以提高猪胴体瘦肉率,降低饲料成本^[5]。王晶等^[6]利用 CBE 单碱基编辑技术对宁乡花猪的 *MSTN* 基因进行定点编辑,在 *MSTN* 基因第 2 外显子处成功引入终止密码子,建立基因敲除的单碱基编辑体系,与野生型相比,机体内单克隆细胞 *MSTN* 蛋白的表达量降低约 60%,从而为培育 *MSTN* 碱基编辑猪奠定了基础。

与灵长类动物模型相比,猪具有饲养成本低、繁殖周期短、操作简单等优点,研究表明猪肾的大小以及心率、血压等各项生理指标都与人类非常相似,因此可以作为异种器官移植的常用供体。由于猴的遗传关系与人较近,因此临床试验中异体移植的受体首选猴。2023 年 11 月 10 日,由窦科峰院士主刀,将基因编辑猪的肝、肾、心脏等多个器官和组织,分别移植给 7 只受体猴,术后无不良反应、状态良好;2024 年该团队又成功将一只多基因修饰猪的肝移植到一位脑死亡患者体内,术后胆汁分泌正常,无超急性排斥反应,证明了基因编辑猪作为器官移植供体的可能性^[7]。通常将基因编辑物质递送至哺乳动物细胞的方法是显微注射,但是这种方法所需设备昂贵,并且费时费力。利用电穿孔的方式可以一次性处理 35~100 个受精卵,与显微注射技术相比,电穿孔介导的基因编辑技术大大增加了传递效率。2023 年日本德岛大学 TANIHARA 等^[8]开发了一种利用电穿孔技术将编辑的胰岛素基因导入猪受精卵中,生产胰岛素基因突变猪,从而为人异种移植胰岛提供合适的供体。异种移植作为器官移植领域的技术高地,具有不可估量的临床应用价值。美国马里兰大学医学院经 FDA 授权,成功将多基因修饰猪的心脏移植到一名 57 岁男性心力衰竭患者体内,术后 42 d 内未观察到排斥现象,从而证明了异体移植心脏的可行性^[9]。2023 年 9 月 20 日,美国马里兰大学的 Bartley Griffith 等将一颗转基因猪心脏移植到患有晚期心脏病的男子体内,目前该男子无明显术后反应,移植的心脏也可以正常使用,再一次为疾病的治愈提供新的可能^[10]。

异种移植最主要的问题是生物安全,包括移植器官的病原体感染、内源性逆转录病毒感染等,目前人们尝试通过基因编辑技术解决这个问题。2024 年 3 月 16 日,全球首例活体人类移植猪肾手术在美国马萨诸塞州总医院进行,移植的肾来自一只进行了 69 次基因组编辑的小型猪,这些编辑的基因可以防止机体出现排斥反应,并降低器官受病毒感染的风险^[11]。此外,研究人员在移植手术的免疫抑制剂上也进行了更深层次的研究。研究发现非临床免疫制剂 Anti-CD40 mAb,在猪到猴的异种移植实验中对免疫反应具

有明显的改善作用^[12]。随着基因编辑技术与临床医学的结合,相信在未来,基因编辑猪会逐渐成为异种移植最可靠的器官来源。

2 在非人灵长类动物中的应用

近年来,以啮齿动物为模型的研究成为生物学、实验动物学以及医学方面的主流,但对于某些特定疾病来说,由于生理结构、物种的差异阻碍着相关研究的进展,因此非人灵长类动物作为模式动物被提上日程。与其它动物相比,非人灵长类动物与人类的亲缘关系最近,表观特征以及在遗传物质上与人类相似度达到 90% 以上,是用来研究人类生殖发育以及疾病治疗的理想动物模型。此外因为繁育周期长、繁殖率低等因素的影响,非人灵长类动物模型的使用目前还未达到完全普及,CRISPR/Cas9 基因编辑技术为基因组的利用和发展提供了更高效、快捷的基因操作工具。

2016 年,中国首次利用过表达构建 *MECP2* 基因成功得到第一只自闭症转基因猴,至此非人灵长类动物的基因修饰进入另一个高度^[13]。目前用于人类致病基因修饰的非人灵长类动物模型,主要基于受精卵或者胚胎进行基因编辑操作。以 *Dax1* 基因编辑猴为例,首先对成年母猴进行超数排卵,通过体外受精获得受精卵,随后利用 CRISPR 系统,将靶向基因 *Dax1* 的 sgRNA 和 Cas9 mRNA 同时注入受精卵中,再将胚胎移植到受孕母猴体内,经过 160 d 左右的孕期最终获得猕猴 *Dax1* 基因敲除模型^[14]。之后,随着基因编辑技术的飞速发展,特别是 CRISPR 技术,因其操作简单、使用方便,迅速应用于市场,推动了更精确的非人灵长类疾病模型的构建。*BMAL1* (brain and muscle ARNT-like 1) 是生物钟转录反馈循环的核心因子,*BMAL1* 基因在脑内表达广泛且丰富,尤其在神经元和胶质细胞中高表达,还参与神经元发育和神经活动等方面。2019 年,中国科学院脑科学与智能技术卓越创新中心的孙强与张洪钧团队合作,使用 CRISPR/Cas9 技术首次建立了 *BMAL1* 敲除的猕猴模型,随后通过体细胞核移植技术克隆了 *BMAL1* 修饰的食蟹猴,从而为研究生物节律失常相关疾病的机制提供依据^[15]。心肌病作为扩张型心肌病的一种亚型,是

心力衰竭和心源性猝死的重要原因。2024 年,昆明理工大学灵长类转化医学研究院陈永昌、季维智团队和广州实验室、上海交通大学医学院附属新华医院等机构合作,利用 CRISPR-Cas9 介导的突变技术构建了携带 *DMD* 基因第 5 外显子突变的嵌合体恒河猴,分析发现该模型与临床患者表型高度吻合,从而为研究治疗杜氏肌营养不良症的有效性和安全性提供了一个新思路^[16]。家族性高胆固醇血症 (familial hypercholesterolemia, FH) 是一种遗传性常染色体显性遗传病,与高血浆低密度脂蛋白胆固醇水平息息相关,容易引起各种心血管疾病。SATO 等^[17]利用 CRISPR/Cas9 基因组编辑系统删除低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, *LDLR*) 基因,共获得 6 只 *LDLR* 基因敲除食蟹猴,结果显示猴子的血浆胆固醇和甘油三酯水平相当高,对治疗高胆固醇血症的药物有很强的抵抗力,该模型对 FH 的研究和临床治疗提供坚实的基础。自闭症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD) 是一种复杂的神经发育疾病,影响社会互动和行为,广泛受到人类关注。2023 年暨南大学教授李晓江团队与中科院遗传与发育生物学研究所研究员张永清团队合作,LI 等^[18]使用非人灵长类动物作为动物模型,发现食蟹猴胚胎中 CRISPR/Cas9 介导的 *CHD8* 突变可以导致胶质细胞生成增加,从而导致食蟹猴出现大头畸形症状,从而为自闭症患者早期干预治疗提供新的思路和靶点。

由于利用 CRISPR/Cas9 技术构建的基因编辑猴多为嵌合体,不表现出某些疾病的临床症状,而且构建成本高、成功率低、周期长,因此需要提高基因编辑的效率,来改变这一现状。研究发现,可以将 CRISPR 系统与腺病毒或脂质纳米颗粒 (lipid nanoparticles, LNPs) 等基因传递技术联合使用,基于体细胞进行基因编辑构建非人灵长类模型^[19]。由中科院、云南省二院以及云南中医药大学等研究团队合作,利用腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 传递的针对甲基-CpG 结合蛋白 2 (methyl-CpG-binding protein 2, MECP2) 的 sgRNA,在青少年恒河猴 (*Macaca mulatta*) 的海马 (DG 和 CA1-4) 中诱导了 *MECP2* 的基因突变,该基因突变可引起自闭症的出现,包括社会交往障碍、睡眠模式异常、对厌恶刺激

不敏感等异常行为。这项研究表明,通过腺病毒介导的对体内致病基因的编辑操作,可直接导致青少年灵长类动物行为的变化,为快速生成用于神经生物学研究和治疗的非人类灵长类动物模型铺平了道路^[20]。LNPs 通过受体介导的 *LDLR* 将基因编辑货物运送到肝细胞。纯合子家族性高胆固醇血症 (homozygous familial hypercholesterolemia, HoFH) 是一种病态的遗传性疾病,可引起过早的动脉粥样硬化性心血管疾病。KASIEWICZ 等^[21]开发了一种新的 LNP 递送技术,在利用 CRISPR-Cas 技术构建的食蟹猴 HoFH 模型中,证明了 GalNAc-LNP 传递技术能够在 HoFH 猴模型中对肝基因进行有效的基因编辑。此外,广西医科大学赵永祥团队利用彩超技术经肝门静脉将 CRISPR/Cas9 系统导入食蟹猴的肝,对肝细胞的抑癌基因 *Pten* 和 *p53* 直接进行编辑,产生全球首例原发并转移性肝癌食蟹猴模型,探索出一条抗癌新药高效研发新捷径,为肝癌等恶性肿瘤治疗提供了重要技术平台^[22]。

灵长类动物的生理特性决定了其在生物医学研究中的独特性,我国灵长类动物资源丰富,但对灵长类动物相关的研究较少,因此在模型的构建和临床研究方面与发达国家相比仍有较大的进步空间。随着科技的进步,未来一定可以更加便捷和快速地制备非人灵长类动物模型,更好地为生物医学和疾病研究提供服务。

3 在实验动物犬中的应用

犬作为犬科动物中最早被驯化的动物,目前广泛应用于宠物、军用和医学实验等领域。与啮齿类动物不同,狗与人类相似,出生时就具有免疫能力,后续在成长过程中免疫系统逐渐发展完善。目前随着基因编辑技术的发展,基因修饰犬也得到广泛的应用。犬作为人类疾病模型的价值优势是其寿命较长,可以进行慢性疾病的研究。犬还可以作为研究人类社会行为和精神障碍的动物模型,它们在与人类共同进化的漫长历史中,已经发展出复杂的跨物种情感和社会处理能力,这在其它物种中是没有的。此外,犬的脑结构与人类相似,而且繁殖速度比猴要快得多,因此犬也适合用于神经方面的疾病研究。利用体细胞核移植技术获得的基因编辑犬目前已被

广泛应用于各种用途,不仅用于嗅探犬和救援犬的繁殖工作,也被用于珍稀犬种和狼等濒危犬科动物的保护工作。

犬作为常用的动物模型,在许多疾病领域有着更广泛的运用。DJ-1 是一种几乎在所有细胞和组织中表达的多功能蛋白,可以作为免疫、炎症和眼部疾病的治疗靶点。为了更好地评估该基因的作用和功能,KIM 等^[23]利用体细胞核移植和 CRISPR-Cas9 技术培育了 DJ-1 基因组编辑犬,该犬表现出部分抑制靶基因的表达,为后续的研究提供了可靠和稳定的数据。犬性情温顺,拥有丰富的社交行为并且积极主动与人交流,特别适用于社交与情感研究。利用基因编辑技术构建与社交和情感相关基因的突变体,从而为相关精神疾病包括自闭症的发病机制提供检测体系和平台。SH3 和多重锚蛋白重复域 3 (SH3 and multiple ankyrin repeat domains 3, *SHANK3*) 基因是自闭症谱系障碍的一个高度复制的致病基因,并在多个啮齿动物模型中得到了验证。2024 年,中国科学院遗传与发育生物学研究所的 ZHU 等^[24]利用 CRISPR/Cas9 编辑技术,建立了一个携带 *SHANK3* 突变犬的模型,能够表现出一系列类似自闭症的行为,如社交障碍和高度焦虑,从而表明 *SHANK3* 突变犬是自闭症研究的新的有效动物模型。基因编辑技术通过纠正突变或整合转基因用于治疗肝代谢性疾病的方法多体现在糖原累积病 I a 型 (glycogen storage disease type I a, GSD I a) 小鼠中,大动物涉及较少。GSD I a 是遗传性糖原代谢障碍疾病,与危及生命的低血糖以及肝细胞癌的并发症相关。ARNSON 等^[25]最新研究了一种 CRISPR-Cas9 介导的基因组 GSD I a 犬模型,使用两种腺病毒载体进行基因组编辑,证明基因整合在 GSD I a 的大型动物模型中是可行的。

犬目前在精神疾病、代谢系统疾病的临床研究和药物研发筛选等多个领域中被广泛应用,为相关疾病的治疗及预防提供了宝贵的思路,促进了医学的发展,展现出极大的应用价值。然而目前基因编辑犬多为比格等外来犬种,可以多发掘本地犬种的丰富资源,为本土高发疾病及药物的治疗提供更有力的支持。

4 结论

随着基因编辑技术研究的深入,大动物模型已成为探索疾病病理机制和开发治疗方法不可或缺的工具。每种动物模型都在不同的研究方面展示了其独特的价值。实验动物猪的生理结构、生化指标等各方面与人类相似,以其繁殖速度快、基因操作简便的特点,在异种器官移植方面具有极大的优势。非人灵长类动物作为与人类亲缘关系最近的动物,除遗传物质外,在生理、认知、社会复杂性等方面与人类具有高度的一致性,是用来研究人类生殖发育以及神经疾病治疗的理想动物模型。而犬作为常用的实验动物,体型适中、寿命较长,多用于精神疾病、代谢系统疾病的治疗。目前的大动物模型构建已取得一定的进展,但建立稳定、可靠、可控的动物模型尚面临一些问题,动物个体之间的差异可能导致实验结果出现误差,现有模型有时无法完全准确表现人类疾病的所有症状。因此需要继续优化现有模型,开发新的模型,为人类发展做出贡献。

参考文献:

- [1] 黄耀强, 李国玲, 杨化强, 等. 基因编辑猪在生物医学研究中的应用 [J]. 遗传, 2018, 40(8): 632-646.
HUANG Y Q, LI G L, YANG H Q, et al. Progress and application of genome-edited pigs in biomedical research [J]. Hereditas, 2018, 40(8): 632-646.
- [2] 王清末, 李振阳, 张效生, 等. 利用 CRISPR/Cas9 技术构建 RAG1 基因敲除免疫缺陷猪模型的研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2024, 67(9): 1-7, 114-115.
WANG Q W, LI Z Y, ZHANG X S, et al. Construction of immunodeficiency pig model with RAG1 gene knockout using CRISPR/Cas9 technology [J]. Heilongjiang J Anim Sci Vet Med, 2024, 67(9): 1-7, 114-115.
- [3] ZENG M, WANG B, LIU L, et al. Genome-wide association study identifies 12 new genetic loci associated with growth traits in pigs [J]. J Integr Agric, 2024, 23(1): 217-227.
- [4] 吴彩霞. 基于 TALEN 与 CRISPR/Cas9 基因编辑技术的 Tiki 基因敲除猪和兔的建立 [D]. 长春: 吉林大学, 2020.
WU C X. Generation of Tiki gene knockout pigs and rabbits based on TALEN and CRISPR/Cas9 technology [D]. Changchun: Jilin University, 2020.
- [5] 李鸿辉, 冯冲, 王宁, 等. 体细胞克隆制备肌肉生长抑制

- 素(Myostatin)基因敲除猪[A]. 中国畜牧兽医学动物繁殖学分会第十五届学术研讨会论文集[C]; 2010.
- LI H H, FENG C, WANG N, et al. Somatic cell cloning to produce (Myostatin) gene knockout pig [A]. Proceedings of the 15th Academic Symposium of the Animal Reproduction Branch of the Chinese Association of Animal Husbandry and Veterinary Medicine [C]; 2010.
- [6] 王晶, 朱喆, 张鹏, 等. 利用单碱基编辑器定点突变猪肌肉生长抑制素基因的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(8): 2880-2887.
- WANG J, ZHU Z, ZHANG P, et al. Site-directed mutagenesis of porcine myostatin gene using single base editor [J]. Chin Anim Husb Vet Med, 2022, 49(8): 2880-2887.
- [7] 严涛, 张行勇. 窦科峰院士团队在“基因编辑猪-人”肝脏异种移植取得重大突破[N]. 医学科学报, 2024-03-22(002).
- YAN T, ZHANG X Y. Academician Dou Kefeng's team has made significant breakthroughs in "gene-edited pig-human" liver xenotransplantation [N]. J Med Sci, 2024-03-22(002).
- [8] TANIHARA F, HIRATA M, NAMULA Z, et al. Pigs with an *INS* point mutation derived from zygotes electroporated with CRISPR/Cas9 and ssODN [J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 884340.
- [9] LI J, ZHOU J, ZHANG T, et al. Effective inhibition of PDCoV infection in chimeric APN gene-edited neonatal pigs [J]. J Virol, 2024, 98(8): e0061124.
- [10] KOZLOV M. Pig-organ transplants: what three human recipients have taught scientists [J]. Nature, 2024, 629(8014): 980-981.
- [11] FISHMAN J A, MOHIUDDIN M M. Historic progress in xenotransplantation with successful transplantation of genetically-edited pig kidneys into living recipients [J]. Xenotransplantation, 2024, 31(3): e12864.
- [12] 孙梦娟, 刘通, 申屠璐燕, 等. 猪体外受精技术研究进展[J]. 畜牧与兽医, 2022, 54(1): 123-128.
- SUN M J, LIU T, SHENTU L Y, et al. Progress in research on *in vitro* fertilization of pigs [J]. Anim Husb Vet Med, 2022, 54(1): 123-128.
- [13] LIU Z, LI X, ZHANG J T, et al. Autism-like behaviours and germline transmission in transgenic monkeys overexpressing MeCP2 [J]. Nature, 2016, 530(7588): 98-102.
- [14] CUI Y, NIU Y, ZHOU J, et al. Generation of a precise Oct4-hrGFP knockin *Cynomolgus* monkey model via CRISPR/Cas9-assisted homologous recombination [J]. Cell Res, 2018, 28(3): 383-386.
- [15] 陈红玉, 刘真, 孙强. 基于基因编辑技术的非人灵长类动物模型构建[J]. 生命科学, 2022, 34(10): 1240-1249.
- CHEN H Y, LIU Z, SUN Q. Construction of non-human primate models based on gene editing technology [J]. Chin Bull Life Sci, 2022, 34(10): 1240-1249.
- [16] REN S, FU X, GUO W, et al. Profound cellular defects attribute to muscular pathogenesis in the *Rhesus* monkey model of Duchenne muscular dystrophy [J]. Cell, 2024, 187(23): 6669-6686.
- [17] SATO A, TSUKIYAMA T, KOMENO M, et al. Generation of a familial hypercholesterolemia model in non-human primate [J]. Sci Rep, 2023, 13(1): 15649.
- [18] LI B, ZHAO H, TU Z, et al. CHD8 mutations increase gliogenesis to enlarge brain size in the nonhuman primate [J]. Cell Discov, 2023, 9(1): 27.
- [19] QIU M, GLASS Z, CHEN J, et al. Lipid nanoparticle-mediated codelivery of Cas9 mRNA and single-guide RNA achieves liver-specific *in vivo* genome editing of *Angptl3* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(10): e2020401118.
- [20] WU S H, LI X, QIN D D, et al. Induction of core symptoms of autism spectrum disorder by *in vivo* CRISPR/Cas9-based gene editing in the brain of adolescent *Rhesus* monkeys [J]. Sci Bull, 2021, 66(9): 937-946.
- [21] KASIEWICZ L N, BISWAS S, BEACH A, et al. Lipid nanoparticles incorporating a GalNAc ligand enable *in vivo* liver ANGPTL3 editing in wild-type and somatic LDLR knockout non-human primates [J]. bioRxiv, 2021, 11(1): 15.
- [22] CUI Z, TIAN R, HUANG Z, et al. FrCas9 is a CRISPR/Cas9 system with high editing efficiency and fidelity [J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 1425.
- [23] KIM D E, LEE J H, JI K B, et al. Generation of genome-edited dogs by somatic cell nuclear transfer [J]. BMC Biotechnol, 2022, 22(1): 19.
- [24] ZHU F, SHI Q, JIANG Y H, et al. Impaired synaptic function and hyperexcitability of the pyramidal neurons in the prefrontal cortex of autism-associated Shank3 mutant dogs [J]. Mol Autism, 2024, 15(1): 9.
- [25] ARNISON B, KANG H R, BROOKS E D, et al. Genome editing using *Staphylococcus aureus* Cas9 in a canine model of glycogen storage disease Ia [J]. Mol Ther Methods Clin Dev, 2023, 29: 108-119.