

# 小鼠早期胚胎在 6°C 不同贮液中的保存研究

李光鹏 许晓霖 张心田

(东北农业大学生物工程系 哈尔滨 150030)

**摘要** 低温能抑制哺乳动物植入前胚胎的代谢和发育,从而可使胚胎在体外进行短期贮存。本文利用三种不同贮存液: Whitten's、PBS 和 CMRL-1066 对小鼠 2-和 8-细胞胚胎进行贮存研究。结果表明,贮于上述三种贮液中的小鼠 2-细胞胚胎,在 6°C 贮 24 小时后,经 37°C 培养,成活率分别为 42.8%、0% 和 0%;贮 72 小时后的 8-细胞胚胎的成活率分别为 43.3%、20.0% 和 0%。还证实,培养液中丙酮酸钠和乳酸钠的存在对小鼠胚胎的体外发育是至关重要的。

**关键词** 小鼠,胚胎,冷贮

哺乳动物胚胎的保存方式有两种,一为超低温(-196°C)冷冻;一为 0—10°C 间的低温保存(cold storage)。目前,国内外对冷冻保存的研究甚多,而有关胚胎低温保存的报道很少。本试验分别选用惠滕氏(Whitten's)液、杜氏 PBS 液和 CMRL 1066 液作为保存液和培养液,对小鼠 2-细胞和 8-细胞胚胎进行 6°C 保存研究。

**1 实验方法** 本文于 1989 年 3 月至 1990 年 5 月,选取 6—8 周龄的健康昆明种小白鼠,按常规方法超排、合笼、冲得胚胎。将获得的外观形态正常的 2-细胞和 8-细胞胚胎,分别吸入到

装有上述不同保存液(各加 20% 犊牛血清)的指管中,每管约放 20—30 枚胚胎。取一 250ml 的烧杯,内盛 200ml 22—23°C 的水,将打有合适小孔的硬纸板放入烧杯,指管插在小孔中,呈水浴状态,用锡箔纸把烧杯封好。调节冰箱至 6°C,保存。保存 24 和 72 小时后,分别把 2-细胞和 8-细胞胚胎取出,室温平衡 10 分钟,用新鲜 PBS 液冲洗数次。然后在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,视其发育至囊胚的百分数。

**2 实验结果** Whitten's 液的保存效果最好,保存 24 小时的 2-细胞胚胎和保存 72 小时的 8-细胞胚胎的囊胚发育率分别为 42.8 和 43.3。

说明 6℃ 对于小鼠早期胚胎的保存是可行的。在 PBS 中保存 24 小时的 124 枚 2-细胞胚胎,无一能够存活,而保存 72 小时的 8-细胞胚胎,囊胚发育率也达 20.0。CMRL 1066 不适于小鼠胚胎的保存。试验还发现,Whitten's 液和 PBS 对小鼠 8-细胞鲜胚,有良好的培养效果(囊胚发育率分别为 97.7 和 76.5)。

比较三种保存液的组成,主要区别在于是

否含有丙酮酸盐和乳酸盐。CMRL 1066 虽然含多种氨基酸、维生素和微量元素等,但缺乏这两种物质,不能使小鼠胚胎进一步发育。只含有丙酮酸盐的 PBS,胚胎保存效果也明显不如两种物质均有的 Whitten's 液。从而证实,丙酮酸盐和乳酸盐是小鼠早期胚胎体外发育必不可少的能源物质,仓鼠早期胚胎也存在类似现象 (Schini and Bavister 1988)。