

显示哺乳动物受精卵原核的方法*

肖英达

(中国科学院发育生物学研究所)

哺乳动物的卵属均黄卵，卵黄含量不多且均匀分布于卵质中。大家畜猪和牛的卵中，含有大量的脂肪滴和一些类似色素的颗粒，它们掩盖了细胞核，给显微注射带来了困难。Ha-

mmer, Wall^[3] 曾对猪和牛的卵用离心的方法

* 本实验由杜淼先生指导，并承史瀛仙教授审阅，照片由李建荣同志拍摄；本工作得到自然科学基金资助。一并致谢。

处理,使胞质内的脂肪以及色素颗粒集中于卵子的一端,细胞核就显示出来。大白鼠和小白鼠的卵一般卵质较透明,受精后雌雄原核在显微镜下清晰可见。但有的小鼠,如 C₅₇BL/6J,卵质内含有许多大小不等的颗粒,细胞核模糊不清。但由于这种小鼠的毛色和葡萄糖磷酸异构酶遗传指标清楚,是用来研究细胞核移植以及基因转移的好材料。因此,我们参考 Hammer 处理大家畜卵的方法,对 C₅₇BL/6J 小鼠的卵进行了离心试验,效果很好。离心后雌雄原核十分清晰,而对进一步发育没有不良影响。现将我们的处理方法介绍如下:

材料与方 法

(一) 试剂与药品 Whitten 培养液;透明质酸酶

(二) 实验动物 C₅₇BL/6J 小鼠(黑色毛),下午 4 点,将雌雄鼠合笼,自然交配;昆明小白鼠(白色毛),下午 4 点,将雌鼠与经过输精管结扎的雄鼠合笼,制备假孕鼠。次日早 8 点检查,取出见阴栓的雌鼠,备用。

(三) 离心处理 取当天见阴栓的 C₅₇BL/6J 黑色雌鼠,经颈部脱臼法处死,取出受精卵,用含有透明质酸酶 1 毫克/毫升的 Whitten 培养液,将卵放射冠细胞消化掉,再用培养液清洗卵子数遍,将卵子置于带盖的塑料离心管中(10 毫升离心管,0.5 毫升 Whitten 培养液),离心力为 15,000g,温度 26℃,离心 3 分钟,镜检。经这样处理后的卵,色素颗粒集中于一端,两个原核清晰可见(图 A、B,见封 2)将离心后的卵再移入昆明白假孕鼠的输卵管内待其发育(操作中,要尽量使卵子处于较稳定的环境,如培液的 pH 值)。

结果与讨论

本实验共移植离心卵 78 个。先将 56 个经

表 1 经离心试验组

假孕鼠号	2	5	9	14	总数	怀胎率			
种植卵数	16	14	14	12	16+14				
产仔数	· 出生后被养母吃掉,数目不知				5	11	4	? +20	约 50%

过离心的受精卵,移至 4 只假孕鼠,得到 20 只后代,除去 2 号假孕鼠,咬死仔鼠,产仔数约占移植卵的 50% 见表 1。在与本实验完全相同的条件下,采用 80 个未经离心的卵,移植至 9 只假孕鼠,作为正常对照,共得到 39 只后代,占移植卵的 49%,实验组与对照组,胚胎的发育比例相当,这说明离心处理对受精卵的发育没有不良影响。然后又将 22 个受精卵,经过离心,并注射基因,得到仔鼠 8 只,占移植卵的 36% 见图 2。由于机械损伤以及 DNA 的参与都可能影响胚胎的发育,Gordon^[2], Brinster^[3] 等报道,注射基因后的卵能发育成仔鼠的为 10—20%,这说明产仔率低于对照组不是由于离心的影响。本实验说明,离心不但对胚胎的发育没有不良影响,而且对卵子抗外界刺激的耐受力也没有影响。

表 2 离心后并注射基因

假孕鼠号	19	21	总数	怀胎率
种植卵数	12	10	22	
产仔数	5	3	8	36%

参 考 文 献

- [1] Brinster Ralph L. 1986 Introduction of genes into the germ line of animals. In: The Harvey Lectures Series. 80: 1—38.
- [2] Gordon Jon W. 1985 DNA-mediated genetic transformation of mouse embryos and bone marrow review. Gene. 33: 121—136.
- [3] Hammer, R. E. et al. 1985 Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. Nature. 315: 680—683.