

小鼠胚胎收集及培养液的改进*

徐立滨 李光鹏

(东北农业大学生物工程系 哈尔滨 150030)

摘要 我们对小鼠胚胎收集及培养液作了改进,使操作简单实用,对其他哺乳动物的胚胎操作也有指导意义。

关键词 小鼠 胚胎收集 胚胎培养

小鼠胚胎的体外操纵已经成为有关实验室进行胚胎生物工程操作的基本技术之一^[1-3]。本文于1996年3~7月在多年实际工作的基础上^[1-2],不断对胚胎收集及培养过程中的许多具体技术方法作了改进,形成一套行之有效的操作方法,对其他实验动物和家畜的胚胎操纵也具有指导意义^[4-5]。

1 胚胎收集方法的改进

1.1 输卵管的摘取 断头法杀死雌鼠,沥干血液。打开腹腔,暴露生殖道,将子宫系膜等与生殖管分开。先用小镊子夹住脂肪体,用眼科剪子自输卵管与子宫接合部剪一下,但仍保留一细丝状联系。之后,将剪子移至输卵管与卵巢连接处,持住,用镊子夹住上述留下的细丝联系。然后剪断输卵管与卵巢的连接,直接取走输卵管。

传统方法是连同卵巢及部分子宫一并取下,这样会带来较多的组织碎片、脂滴等,影响冲胚与捡胚。改进后的方法可消除这些因素,有利于胚胎收集和洗涤。

1.2 冲胚针制作 把国产4号针稍作处理,冲胚效果良好。具体做法:将针在酒精灯火焰上烧红,用钳子或钝头镊子掐住两端,将其拽断,即可得到实用的冲胚针。冲完胚胎后,用蒸馏水洗涤几次,防止堵塞。

1.3 冲胚胎方法 受精卵或卵母细胞直接从输卵管壶腹部撕开即得。2-至8-细胞期胚胎自输卵管伞口冲出,桑椹胚和囊胚取自子宫。

开始可适当将光线调暗,提高反差。伞口

一般弯向输卵管团的中央,用镊子轻轻向两侧压一下,就能看到略呈深色的伞口。用镊子夹住伞口下方,将冲胚针插入伞口,再将镊子夹住插入伞口的针部,即可冲胚。

1.4 胚胎收集皿 收集胚胎时,用小表皿(直径30mm)较用一般培养皿好。胚胎进入表皿后,轻轻振动,就可滚落至底部,易捡。

2 培养液及配制方法的改进 为证实葡萄糖对小鼠早期胚胎发育的抑制作用,参照目前克服小鼠2-细胞体外发育阻断的培养液-CZB液^[4],对常用的怀特氏(Whitten's)液(Gwatkin 1972)^[3]作了调整,用1m mol/L的谷氨酰胺取代葡萄糖,并加入0.1m mol/L EDTA。

培养液配制时,除牛血清白蛋白(BSA)外,其他试剂均配成10倍浓度的原液贮于4℃。使用前,按比例顺序加入,调至100ml。临用前加BSA。

用改进的Whitten氏液培养昆明种小鼠受精卵。在发育到4-细胞后,加入5.56m mol/L葡萄糖。结果表明,改进的Whitten氏液可使近100%的胚胎克服2-细胞阻断,而且囊胚发育率与CZB液的培养结果基本一致(见表1)。用改进的Whitten氏液培养经电融合后获得的四倍体胚胎时,四倍体囊胚发育率达80%以上^[5]。

* 黑龙江省自然科学基金和东北农业大学联合资助;
第一作者介绍:徐立滨,女,36岁,实验师,学士;
收稿日期:1996-06-18,修回日期:1997-01-20

表 1 使用改进的 Whitten 氏液培养小鼠受精卵

培养液	发育时期(%)				
	1-细胞	2-细胞	4-细胞	桑椹胚	囊胚
Whitten	52	47	2	0	0
		(90.4) ^a	(3.8) ^c		
改进 Whitten	48	48	47	41	36
		(100) ^a	(97.9) ^a	(85.4) ^a	(75) ^a
CZB	60	58	57	53	48
		(96.7) ^a	(95) ^a	(88.3) ^a	(80) ^a

同一列中, a, c: $P < 0.01$

参 考 文 献

- 1 李光鹏, 许晓霖, 张心田. 小鼠早期胚胎在 6℃ 不同贮液中的保存研究. 动物学杂志, 1994, 29(3): 50~51.
- 2 李光鹏, 张心田, 严云勤. 乳酸钠对小鼠 1-细胞胚胎体外发育的影响. 东北农学院学报, 1993, 24(3): 292~294.
- 3 严云勤, 李光鹏, 郑小民. 发育生物学原理与胚胎工程. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995. 125~136.
- 4 Chatot C. L., C. A. Zlomek B. D. Bavister et al., An Improved culture medium supports development of random-bred 1-cell mouse embryos in vitro. *J. Reprod. Fert.* 1989, 86: 679~688.
- 5 李光鹏, 徐立滨, 蔡世勋等. 小鼠电融合胚胎发育影响因素的研究. 东北农业大学学报, 1996, 27(4): 391~395.