

长爪沙鼠胚胎移植

Embryo Transfer in Mongolian Gerbils

郭萌¹, 王妍¹, 李长龙¹, 杜小燕¹, 陈振文^{1,*}

¹基础医学院, 首都医科大学, 丰台区, 北京市

*通讯作者邮箱: cwen@ccmu.edu.cn

引用格式: 郭萌, 王妍, 李长龙, 杜小燕, 陈振文. (2021). 长爪沙鼠胚胎移植. *Bio-101* e1010930.

Doi: 10.21769/BioProtoc.1010930.

How to cite: Guo, M., Wang, Y., Li, C. L., Du, X., Y., and Chen, Z., W. (2021). Embryo Transfer in Mongolian Gerbils. *Bio-101* e1010930. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010930. (in Chinese)

摘要: 由于长爪沙鼠 (*Meriones unguiculatus*) 特殊的生殖生理学和生殖行为学特点, 其胚胎移植操作与小鼠有一定差别。本文介绍了长爪沙鼠胚胎移植技术的详细流程, 特别是其假孕母鼠制备中的独特步骤, 通过这些操作可达到与小鼠相似的胚胎移植成功率。本技术为长爪沙鼠胚胎净化, 体外受精以及显微操作奠定了技术基础。

关键词: 长爪沙鼠, 假孕, 胚胎移植

材料与试剂

1. 带有托盘鼠笼 (苏杭实验动物设备厂)
2. 35 mm、10 cm 细胞培养皿(美国 Corning 公司, catalog number: 430165, 430167)
3. 口吸管 (美国 Sigma Aldrich 公司, catalog number: A5177)
4. 孕马血清促性腺激素 (pregnant mare serum gonadotropin, PMSG)
(中国宁波第二激素厂)
5. 人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, hCG)
(中国宁波第二激素厂)
6. 戊巴比妥那 (中国北京索莱宝科技有限公司)
7. M2 培养基 (美国 Sigma Aldrich 公司, catalog number: M7167)
8. 石蜡油 (美国 Sigma Aldrich 公司, catalog number: M8410)

仪器设备

1. 解剖镜（德国 Leica 公司，EZ4W）

实验步骤

1. 假孕受体沙鼠制备

使用 10~12 周雌性长爪沙鼠作为受体沙鼠进行实验，以 10 IU/只的剂量注射 PMSG 和 hCG，注射间隔时间为 70 h，具体步骤如下：在第一天 16~17 时腹腔注射 PMSG，第四天 14~15 时腹腔注射 hCG，注射剂量均为 10 IU/只。与输精管结扎的雄性沙鼠合笼，因沙鼠阴道栓极易脱落，应在含有托盘（图 1）的笼内交配，通过观察托盘内是否有掉落的阴道栓判断交配是否成功。阴道栓检测阳性即可确认作为假孕受体沙鼠即假孕 0.5 天。



图 1. 带有托盘的鼠笼

2. 受精卵移植

(1) 麻醉：在胞质注射完成半小时后，将当日检栓/假孕 0.5 dpc 的假孕沙鼠进行称重，并以 100 mg/kg 的剂量注射 1% 戊巴比妥使其麻醉。沙鼠完全麻醉后将其腹部朝下置于擦手纸上进行后续操作。

(2) 暴露生殖道：用眼科剪将沙鼠左侧背部去毛，用 75% 消毒酒精喷洒背部并用酒精棉球擦净进行消毒。在左侧背部约卵巢的位置剪开约 1 cm 的小口，依次剪开皮肤、肌肉等，直至可以接触到输卵管和卵巢。用镊子夹住脂肪垫以便将脂肪垫、卵巢和输卵管拉出体外。

(3) 将胚胎吸入移卵管：在 10 cm 细胞培养皿中滴加几滴预热的 M2 培养基，用口吸管吸出 20~22 枚存活的培养 0.5 dpc 的胚胎（如图 2 所示，一般移植 20~22 枚卵可

产子 7 个左右，接近于沙鼠自然交配产仔数），并在 M2 液滴中进行洗涤。在吸入胚胎之前，吸一小段 M2 培养基、吸一小段空气，反复 2~3 次，再将胚胎吸入到移卵管中。

(4) 胚胎移植：再次用镊子将沙鼠的卵巢和输卵管拉出体外，用小动脉夹夹住脂肪垫固定生殖道，若没有脂肪垫，则夹住血管较少的系膜处。在体视解剖镜下，找到输卵管伞口，用显微镊去除包裹输卵管伞口的透明的膜，沿着输卵管的方向将移卵管插入输卵管伞口，并将胚胎和一个气泡轻吹入沙鼠输卵管中。松开动脉夹，用镊子将沙鼠的卵巢和输卵管及生殖道从切口放回，并缝合切口，为动物保温，直至沙鼠清醒后，放回鼠笼单笼饲养。

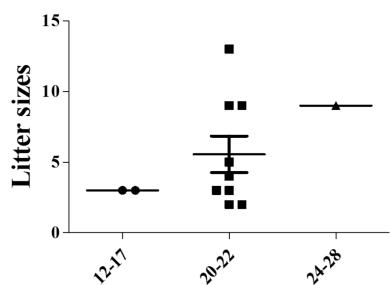


图 2. 移植不同数目胚胎后的产仔数

致谢

本研究得到国家自然科学基金（31672375,31872308,31970512,31572348）和“十三五”时期北京市属高校高水平教师队伍建设支持计划(IDHT20170516)资助。

参考文献

1. 王妍. (2019). 利用 CRISPR/Cas9 技术构建基因敲除长爪沙鼠动物模型. 首都医科大学硕士学位论文.
2. Wang, Y., Zhao, P., Song, Z., Du, X., Huo, X., Lu, J., Liu, X., Lv, J., Li, C., Guo, M. and Chen, Z. (2020). [Generation of gene-knockout Mongolian gerbils via CRISPR/Cas9 system](#). *Front Bioeng Biotechnol* 8: 780.