

长爪沙鼠体外受精

In vitro Fertilization of the Mongolian Gerbil Egg

李长龙^{1, #}, 郭红刚^{2, #}, 郭萌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; ²杭州医学院, 杭州, 浙江;

*通讯作者邮箱: czwen@ccmu.edu.cn

#共同第一作者/同等贡献

引用格式: 李长龙, 郭红刚, 郭萌, 杜小燕, 陈振文. (2021). 长爪沙鼠体外受精. *Bio-101* e1010932.

Doi: 10.21769/BioProtoc.1010932.

How to cite: Li, C. L., Guo, H., G., Guo, M., Du, X., Y., and Chen, Z., W. (2021). *In vitro* Fertilization of the Mongolian Gerbil Egg. *Bio-101* e1010932. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010932. (in Chinese)

摘要: 长爪沙鼠精子体外受精是确保遗传多样性的重要基础性工作, 也是实验动物生物净化的常用技术。我们通过实验验证制定本技术规程。结果表明, 方法有效可行, 为后续其他工作奠定了良好基础。

关键词: 长爪沙鼠, 精子, 体外受精

材料与试剂

1. 矿物油(sigma, catalog number: M8410)
2. 体外获能液 (自行配置)
3. 体外受精液 (自行配置)

仪器设备

1. CO₂ 培养箱 (Thermo)
2. 倒置显微镜(LAICA)
3. 35 mm 培养皿(Corning, USA)
4. 手术器械 (镊子, 手术剪, 显微镊, 显微剪)

实验步骤

实验前准备

1. 雌鼠的超数排卵：参照其他部分。
2. 液滴平衡：取获能液和受精液在 35 mm 培育皿中分别作获能液滴（300 μ L/滴）和受精液滴（200 μ L/滴），用矿物油覆盖液滴，在使用前 30 分钟平衡。

实验步骤

1. 精子的获取与获能：
2. 取 4 月龄有繁育能力的雄鼠，颈椎脱臼处死，腹部 75% 酒精消毒，打开腹腔，取附睾尾。用眼科剪小心将附睾尾周围的脂肪剥离，在灭菌滤纸去除血迹和脂肪，用拇指和食指轻轻挤压附睾尾，同时用 1 mL 注射器针头刺破附睾尾，待破口处涌出乳白色的精子团后用 1 mL 注射器针头挑出 30 微升精子，置于预先平衡液滴中，在 5% CO_2 、95% 空气、饱和湿度 100%、37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中获能 4 h。
3. 卵子的获取：参照其他部分。
4. 体外受精：用 10 μ L 移液枪从获能液滴的周边吸取 10 μ L 精子加入到有卵丘团的受精液中，每 200 μ L 液滴中含 40-60 个卵母细胞，二氧化碳培养箱孵育 8-9 h。

结果与分析

受精培养 8-9 h 后将卵子移出（图 1~2），置于受精液中洗 3 遍，移入预先平衡的受精液中继续培养 48 h 后观察 2-cell 发育率（图 3~6）



图 1. 超排后卵巢

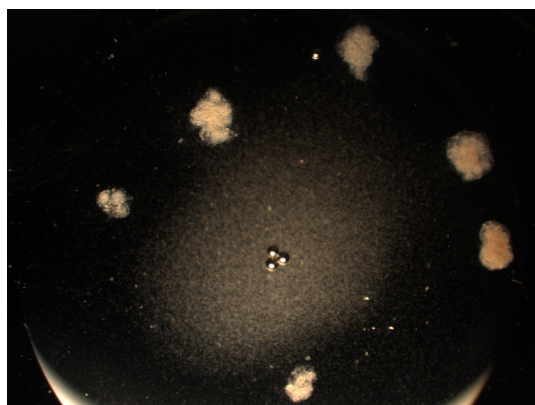


图 2. 体外受精中

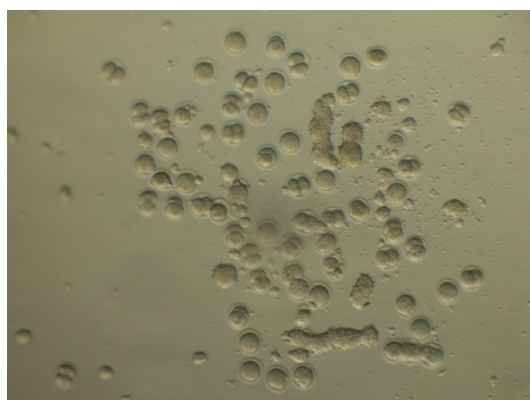


图3. 体外受精率47.5%



图4. 体外受精率58.1%

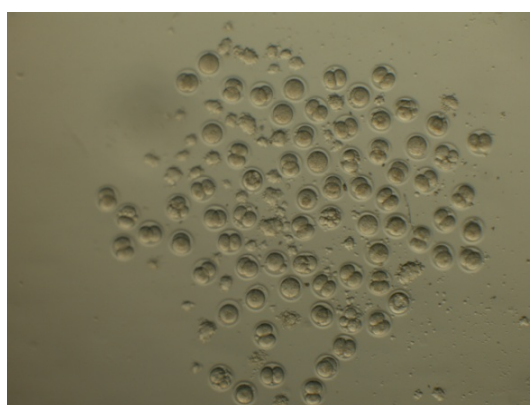


图5. 体外受精率65.2%

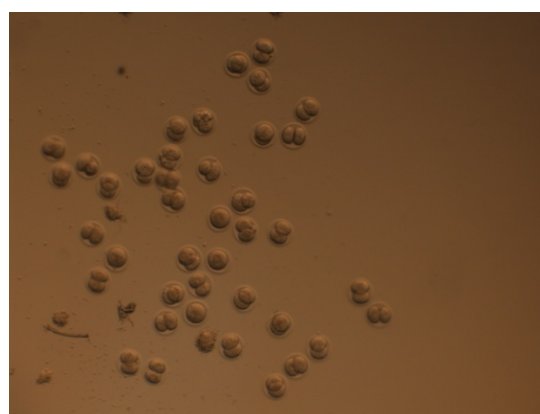


图6. 体外受精率84.6%

溶液配方

1. 体外获能液

组成成分为：NaCl、KCl、NaHCO₃、葡萄糖、丙酮酸钠、牛磺酸、肾上腺素、BSA、MgCl₂·6H₂O、NaH₂PO₄·2H₂O、CaCl₂·2H₂O、酚红（0.5%）、青霉素 G、硫酸链霉素及 DL-乳酸钠溶液，pH 值为（7.35 ± 0.10），渗透压为（315 ± 5）

2. 体外受精液（组成成分除 BSA 加倍外，其余同体外获能液。）

致谢

感谢国家自然科学基金项目（Nos. 31572341, 31572347, 31772545, 31572348）、国家科技支撑计划项目（No. 2015BAI09B00）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. 郭红刚, 李莉, 周生来, 卢领群, 李坤, 杜江涛, 石巧娟, 金秀清, 李长龙, 萨晓婴, 应华忠, 褚晓峰. (2017). 长爪沙鼠体外受精与早期胚胎体外培养体系的初步建立. 中国实验动物学报, 25: 624-631.