

小鼠早期胚胎移植技术的研究

王培生 杨秀琴 荣瑞章

(中国科学院遗传研究所, 北京)

哺乳动物胚胎移植技术是实验胚胎学、遗传学、发育生物学研究中的一项重要技术。在卵母细胞的体外培养、卵的体外受精及对早期胚胎进行显微手术等研究中, 往往是通过观察卵在体外培养中的卵裂情况来鉴定实验效果。但是更理想的方法就是将发育能力的胚胎移入受体子宫或输卵管内, 以观察胚胎能否继续发育直至胎儿出生。为此, 我们对小鼠早期胚胎进行了外科、非外科手术移植的研究。

材料和方法

移植的胚胎是用黑色 C57/BL、棕色 L615、野灰色 CHBE 及 C57/BL/LCR 雄鼠分别与昆白品系雌鼠杂交所得的杂种胚胎。外科手术移植 91 个胚胎, 非外科手术移植 144 个胚胎。受体均为昆白品系的处女鼠, 外科手术受体 15 只, 非外科手术受体 23 只。

在供体母鼠接受交配后的第 3 天, 用 2 毫升 TCM-199 液分别冲洗两侧子宫角(图 1), 采

集桑椹胚和胚泡。将收集到表面皿内的胚胎放在解剖镜下检查, 选择形态正常的胚胎给受体移植, 由受体产仔情况衡量移植效果。

选择的受体是假孕 2 天的雌鼠。移植前腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 0.2—0.25 毫升, 5 分钟之后受体便处于完全昏迷状态, 麻醉可持续 1 小时以上。

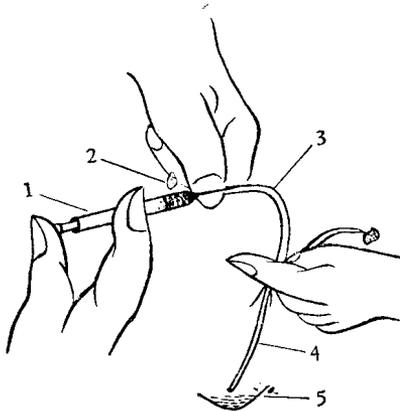


图 1 子宫冲胚胎示意图

1. 吸有冲卵液注射器; 2. 卵巢; 3. 子宫角; 4. 冲卵管; 5. 表面皿。

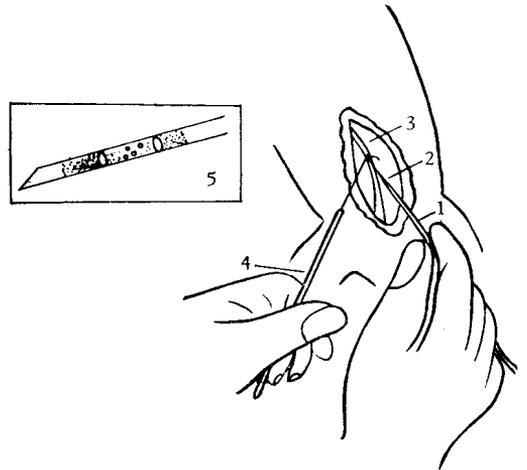


图 2 小鼠胚胎外科手术移植示意图

1. 外径 2 毫米医用聚乙烯管; 2. 微管; 3. 子宫角; 4. 斜视钩; 5. 微管放大示意图。

我们采用 Marsk 和 Larsson^[5] 研制的移植器移植。移植器中的注射器及聚乙烯管内充满液体石蜡, 聚乙烯管的前端连接吸胚胎用的聚乙烯微管。微管外径 0.9 毫米, 管内由 2 个小气泡将液体分为三部分, 前端液体防止胚胎丢失, 末端液体保证胚胎进入子宫。手术移植时为了使微管容易穿透子宫壁, 微管顶部需成斜面(图 2)。非手术移植时为了不损伤子宫颈口、

Wang Peisheng et al.: Investigation on Technique of Embryo Transfer in Early Stage in Mouse

表 1 小鼠胚胎外科、非外科手术移植结果

种类	受体数(只)	移入卵数(个)	产仔受体数(只)	受体产仔数(只)	成活率(%)
外科手术移植	15	91	11	54	59.3
非外科手术移植	23	144	12	36	25.0

讨 论

1. Little^[1] 1935 年用外科手术方法首先取得小鼠胚胎移植成功,以后 Fekete 和 Little(1942)、Mclaren 和 Michie^[2,2] 等 1956 年和 1959 年相继进行了这方面的试验。在这一时期, Gates^[3] 取得较好的结果: 160 个胚泡被移入 40 只受体中,受体受胎率为 50%,胚胎成活率为 38.75%。在上述的研究中,由于移植胚胎一直采用手或注射器进行操作,因此失误机会较多。我们采用移植器移植就较为可靠,不致丢失胚胎。

2. Beatty^[4] 最先采用非外科手术方法,将 51 个桑椹胚或胚泡移入 30 只受体,获得 5 只幼鼠,胚胎成活率为 10%。以后 Marsk 和 Larsson^[5] 采用机械控制的方法,将 521 个 A/Jax 品系小鼠的胚泡移入 79 只 CBA 品系雌鼠中,在移植的第 14 天剖检,收集到活胚胎 262 个,受胎率为 50%。我们在采用上述方法移植操作中认为须注意以下几点: (1) 必须选择直径适宜的微管,过细容易刺伤子宫内膜或穿透子宫角,过粗则损伤子宫颈口。(2) 当微管穿过子宫颈口后,受刺激的子宫颈口会肿胀,并使子宫收缩产生排液现象,此时移植的胚胎有可能被排出体外而造成移植失败,在麻醉持续的时间内,胚胎在子宫内可沉积下来,冲卵液将被子宫逐渐吸收; (3) 移植结束拔出微管时,微管中需保留一部分液体,避免多量气体进入子宫。

参 考 文 献

- [1] Mclaren, A. and D. Michie: 1956. *J. Exp. Biol.*, 33: 394—416.
- [2] ————: 1959. *ibid.*, 36: 40.
- [3] Tarkowski, A. K.: 1959. *Acta Theriologica*, 2: 251—267.
- [4] Beatty, R. A.: 1951. *Nature*, 168: 995.
- [5] Marsk, L. and K. S. Larsson: 1974. *J. Reprod. Fert.*, 37: 393—398.

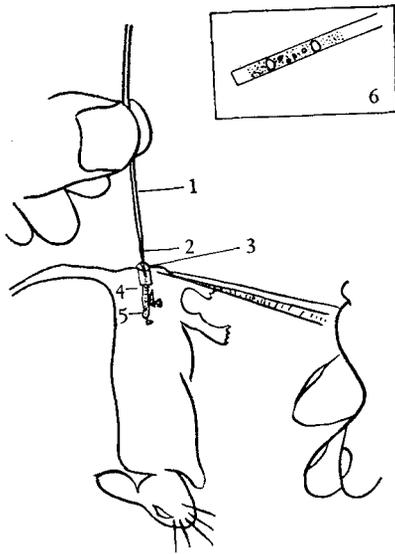


图 3 小鼠胚胎非外科手术移植示意图

1. 外径 2 毫米医用聚乙烯管; 2. 微管; 3. 开腔器;
4. 子宫颈口; 5. 子宫角; 6. 微管放大示意图。

微管顶部需成平面(图 3)。

外科手术移植时,在鼠后腹部作一个 1 厘米的切口,用斜视勾牵引出两侧子宫角,用 4 号针头在子宫角壁上刺一小孔,将微管经小孔插入,然后旋转微量推进器,把 5—10 个胚胎分别注入两侧子宫角(图 2)。

非外科手术移植时,用镊子夹住阴蒂的前部将鼠提起,用直径 4 毫米长 10 毫米的医用聚乙烯管做开腔器。将吸有胚胎的微管插入阴道,向阴道底部细心地寻找到子宫颈口,然后将微管缓慢地推进,当微管插入大约 15 毫米时,旋转微量推进器,将微管内的 5—10 个胚胎注入子宫角(图 3)。

结 果

如表 1 所示,91 个杂种胚胎(桑椹胚或胚泡)经外科手术移入 15 只昆白品系雌鼠子宫内,11 只受体产幼鼠 54 只,受体产仔率为 73%,胚胎成活率为 59.3%。144 个杂种胚胎(桑椹胚或胚泡)经非外科手术移入 23 只昆白品系雌鼠子宫内,12 只受体产幼鼠 36 只,受体产仔率为 52%,胚胎成活率为 25%。以上幼鼠均为有色的杂种鼠。