

绵羊卵母细胞的体外培养、受精与发育的观察

旭日千 张锁链 薛晓先 廖洪武 李喜和 刘东军 斯 琴

(内蒙古大学实验动物研究中心)

笔者等把屠宰母羊卵巢卵母细胞经体外培养成熟后用于体外受精,曾得到76.2—92.5%的受精率。本实验将体外成熟、受精后的羊卵在体外条件下继续培养或者在2—4细胞期移植给受体母羊之后,分别观察了培养卵的发育情况和移植羊的受胎率。

方法把采自屠宰场的卵巢在1—12小时内带回实验室,用装有18号针头的注射器抽取2—5mm小卵泡中的卵母细胞,选取卵丘细胞层完整的

卵子,在39℃、5% CO₂培养箱内以含有10% NSS(或FCS)、hCG(20 μg/ml)、E₂(1 μg/ml)的Hepes缓冲TCM 199培养24—26小时。然后选取卵丘细胞层扩展的成熟卵,用以Ionophore A 23187(0.1 μM; 1分钟)诱导获能处理的新鲜精子进行授精处理。7—10小时后移入发育用培养基即含有10% FCS(或NSS)和丙酮酸钠的Hepes缓冲TCM 199内继续培养。授精处理24—40小时后,将部分发育为2—4细

胞期胚手术移植给受体母羊,将连续三个情期末返情的确认为受胎羊。另一部分卵子则在授精处理48—72小时后统计其卵裂卵的出现率,并继续培养7—12天详细观察了卵裂卵的发育情况。

结果是:(1)授精处理48—72小时后卵裂卵的出现率在FCS添加组为39.6%(145/366),在NSS添加组为52.4%(182/347),前者显著低于后者(P < 0.01);(2)将59枚2—4细胞期胚分别移植给

20 只受体母羊, 有 10 只受胎 (预产期为 1989 年 3—4 月)。其余 10 只均在移植后第一个情期返情; (3) 在发育用培养基内继续培养的 482 枚卵裂卵中有 312 枚 (64.7%) 发育为桑

椹胚——囊胚期胚胎。其中桑椹胚和囊胚 (包括部分孵化囊胚) 的发育率分别为 52.1% (251/482) 和 12.6% (61/482)。

以上结果表明, 采自屠宰母羊卵巢的卵母细胞经体外培

养成熟, 体外受精处理后可以用于胚胎移植, 而且在纯体外条件下能发育为囊胚期胚胎。

(1989 年 2 月 11 日收)