

实验室小鼠的人工授精*

钱松明 牧佐渭 戴丽军

(中国科学院上海生理研究所)

实验小鼠人工授精技术,国外早有报道^[1-4]。但在国内,迄今未见报道。这项技术的建立,对于某些突变品系小鼠的繁殖与品种改良有着特别重要的意义,并为受精、着床和胚胎发育等基础理论研究提供了重要的技术手段。参照国外的资料,经过一年多的试验,现已获得初步结果。

(一) 材料

1. 实验分4组,雌鼠均为昆明种小白鼠,简称“昆明白”,体重22—28克。雄鼠:第一组津白1×129F₁;第二、第三组昆明白;第四组C57BL和昆明白两种小鼠,体重28—35克。

2. 孕马血清(Pregnant Mare's Serum 简称

PMS) 第一组用自制的78天孕马血清,效价未测。其余均用上海某研究所提供的试制产品。PMS用0.85%的氯化钠溶液配成每毫升含50国际单位。

3. 人绒毛膜促性腺激素(Human Chorionic Gonadotropin 简称HCG),为市售商品。HCG用0.85%的氯化钠溶液配成每毫升含50国际单位。

4. 授精用具:(1)精子悬浮液注射器:选用0.25毫升的玻璃注射器(图1D)。(2)授精用注射针头:选用5号封闭针,把针尖磨钝并

* 张松荪同志协助摄制照片,谨致谢意。

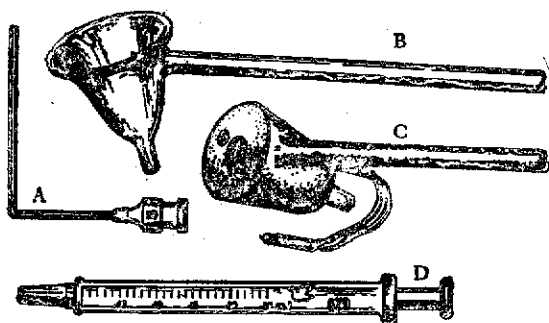


图1 A.授精用针头; B.金属子宫镜; C.玻璃子宫镜; D.玻璃注射器。

弯成直角(图1A)。(3)子宫镜:用金属或玻璃制成(图1B和C)。

(二) 方法

1. 诱导排卵: 每只雌鼠腹腔注射 PMS 50

国际单位, 38—50 小时后, 再腹腔注射 HCG 50 国际单位。未成年小鼠在 HCG 注射后的 9—11 小时, 进入动情期, 12 小时开始排卵。成年小鼠在 HCG 注射后的 10—12 小时排卵。

2. 精子的采集: 用颈椎脱位的方法将雄鼠迅速杀死, 在室温下放置 0.5—2 小时, 以防止精子因骤冷而导致休克。然后剖取输精管和附睾尾, 将输精管内的精子轻轻挤压出来, 同时把附睾尾剪碎, 洗出精子。每只小鼠的精子用 0.4 毫升 0.85% 氯化钠溶液稀释成精子悬浮液, 并需保持在 37°C。精子悬浮液经镜检精子的密度必须是“浓”或“中”。精子的活动度必须在 0.5 以上。每只雌鼠授精的精子数不应少于 10^6 。当精子悬浮液达到上述要求时, 则迅速进行授精。

表 1 小鼠人工授精统计表

实验组	授精数 (只)	怀孕数 (只)	受孕率 (%)	授 精 结 果
1	15	5	33.3	1 号鼠授精后 10 天剖检, 两子宫角内各有 10 个正常胚胎(图 2) 2 号鼠授精后 11 天剖检, 两子宫角内各有 7 个正常胚胎。 3 号鼠授精后 14 天剖检, 右侧子宫角内有 1 个正常胚胎。 4 号鼠授精后 20.5 天, 生仔 3 只 5 号鼠授精后 24 天, 生仔 3 只。
2	12	1	8.3	6 号鼠授精后 20 天, 生仔 9 只(图 3—4)
3	10	3	30	7 号鼠授精后 18 天, 生仔 2 只。 8 号鼠授精后 20 天, 生仔 4 只。 9 号鼠授精后 21 天, 生仔 2 只。
4	20	2	10	10 号鼠用 C 57 BL 雄鼠的精子, 授精后 19.5 天, 生黑色仔鼠 4 只 11 号鼠用 C 57 BL 和昆明白两种雄鼠的混和精子授精, 授精后 22 天, 生仔 4 只, 3 只黑色, 1 只白色。(图 5)

3. 授精: 用授精注射器吸取精子悬浮液, 借助于子宫镜经宫颈将注射针伸入子宫角, 将精子悬浮液徐徐注入子宫腔。每只雌鼠注入精子悬浮液 0.04—0.08 毫升。当精子悬浮液注入子宫腔后, 立即用人工阴栓¹⁾塞入小鼠阴道深处, 以阻止精子悬浮液外流。

根据小鼠的生活特性, 人工授精宜在晚上进行。

(三) 结果

1. 4 组实验共授精 57 只小鼠, 怀孕雌鼠共 11 只。受孕率分别为: 33.3%、8.3%、30% 和

10% (见表 1, 图 2—5)

2. 4 组实验共获得成活仔鼠 31 只。这些仔鼠成年后都具有正常的生育能力。3 只雌鼠经剖检的正常胚胎数未统计在内。

3. 人工授精的雌鼠, 胚胎均能正常发育(见图 3)。其中 83% 的雌鼠都在正常的孕期(18—21 天)内产仔, 而大约有 17% 的雌鼠孕期延长

1) 用脱脂棉花制成 3×6 毫米的棉塞, 经生理盐水湿润后, 再蘸取雄鼠精液腺 (Vesicular Gland) 和凝固腺 (Coagulating Gland) 的混合液体, 迅速塞入雌鼠阴道, 以取代阴栓。

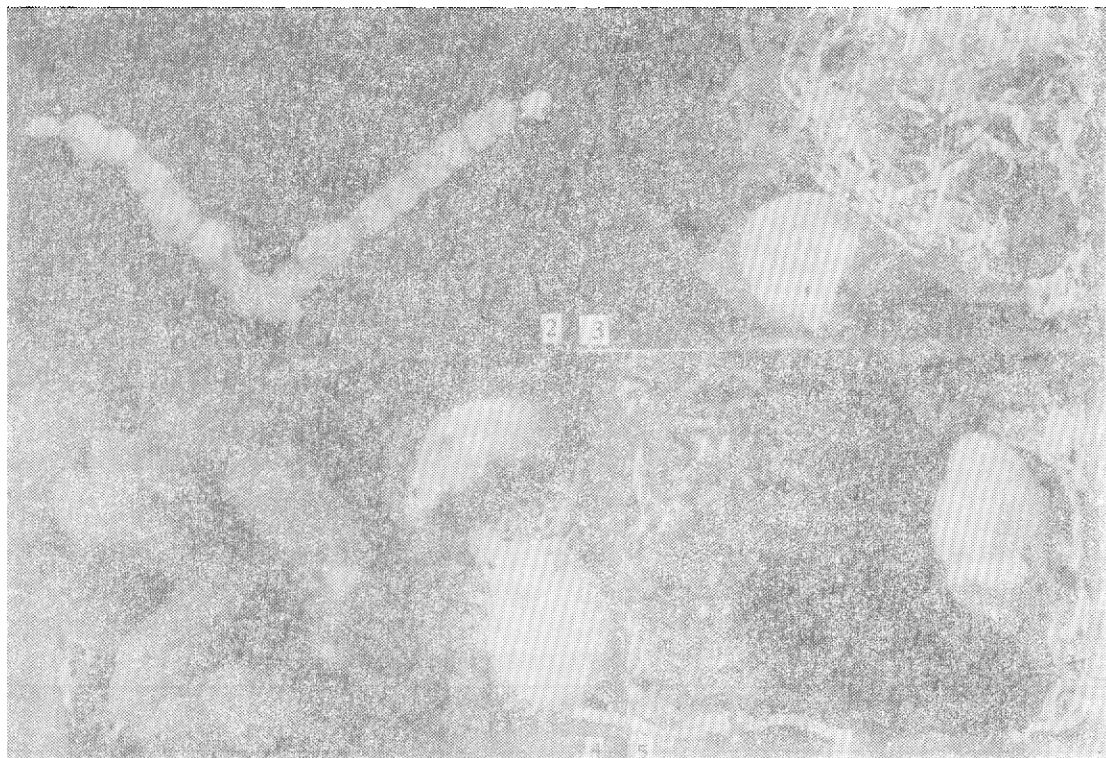


图2 1号鼠授精后10天剖检,两子宫角各有10个正常胚胎。

图3 6号鼠授精后20天,生仔9只。图示2日龄仔鼠。

图4 6号鼠(中间1只)和9只仔鼠。图示40日龄的仔鼠。

图5 6号、11号鼠所生4只仔鼠。

到24天。

4. 小鼠人工授精是可行的,但目前受孕率仍低,有待进一步改进和提高。

参 考 文 献

[1] Edwards, R. G. 1957, The experimental induction of gynogenesis in the mouse. *Proceedings of the Royal Society of London, Ser. B.* **146**(925): 488—504.

[2] Snell, G. D., K. P. Hummel and W. H. Abelmann, 1944, A technique for the artificial insemination of mice. *Anat. Rec.* **90**: 243—253.

[3] Southard, J. L., H. G. Wolfe and E. S. Russell, 1965, Artificial insemination of dystrophic mice with mixtures of spermatozoa. *Nature (London)* **208**: 1126—1127.

[4] Wolfe, H. G. 1967, Artificial insemination of the laboratory mouse. *Laboratory Animal Care* **17** (4): 426—432.