

小鼠胚胎移植技术的研究

蒋广泰 曾国庆

(中国科学院动物研究所)

哺乳动物的胚胎移植技术已有一百年的历史。1935年利特尔(Little)首次报道小鼠胚胎移植成功,以后麦克拉伦(McLaren)、马斯克(Marsk)、塔科斯基(Tarkowski)、盖特(Gates)、霍恩斯坦(Hornstein)以及迪克曼(Dickmann)等也相继报道了这方面的研究^[4-9]。

近年来,我国王培生、吕容真等也对小鼠早期胚胎进行了外科和非外科手术移植的研究^[1-3]。

小鼠的胚胎移植技术是生殖生物学、基因工程和细胞工程等所必不可少的技术之一。近几年,为了配合胚胎着床机理和基因工程的研究,我们采用了一种简单的方法进行小鼠胚胎移植技术的研究。现将该方法简述如下:

材料和方法

(一) 动物 本试验共用二种品系的小鼠。

1. 供体 一种是昆明品系的雄鼠和雌鼠交配后,将冲出的4天胚胎移植到本品系假孕鼠的两侧子宫角。

另一种是用C₅₇的雄鼠和雌鼠交配后,将

冲出的4天胚胎移植到昆明品系真孕鼠的子宫角。

2. 受体 用昆明品系雌鼠和结扎输精管一个月后的雄鼠进行交配,作为假孕鼠。

经交配后的母鼠,次晨检查阴栓,发现阴栓者为妊娠的第1天,在妊娠的第4天上午将供体鼠处死,取出子宫后立即用0.5毫升冲洗液(80%注射用生理盐水加20%小鼠血清)分别冲洗两侧子宫角,收集桑椹和胚泡期的胚胎,在解剖镜下选择形态正常的胚胎作移植用。

受体选用假孕3天的雌鼠,腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,当受体处于完全昏迷状态时,从背部两侧切口,暴露出子宫立即进行移植。

(二) 移植方法 采用1微升微量注射器(上海注射器三厂的产品)作为移植器(见图1),吸取含有胚胎的溶液1微升,用微量注射器直接插入接近输卵管端的子宫约5毫米,将带有胚胎的溶液徐徐注入子宫内。一般每侧子宫移入4—6个胚胎。在胚胎移植后一周,观察和计算胚胎着床数或部份受体的产仔数。



图1 a 为胚胎移植器; b 为移植器内管,其直径 100μ

结 果 (见表 1)

由表 1 所示, 我们共移植桑椹或胚泡期的胚胎 845 个, 着床数 569 个, 着床率为 67.3% 受体鼠共 137 只, 妊娠鼠为 107 只, 妊娠率为 78.1%。如将 C₅₇ 鼠的 16 个胚胎移植到 4 只昆明品系真孕鼠的子宫内则受体产仔数为 6 只, 平均产仔率为 38% (见图 2)。

表 1 小鼠早期胚胎移植结果

小鼠品系	移植卵数(个)	着床数(个)	着床率(%)	受体鼠数(只)	妊娠鼠数(只)	妊娠率(%)	受体产仔数(只)	平均产仔率(%)
昆明种供体→昆明种假孕受体	845	569	67.3	137	107	78.1	—	—
C ₅₇ 供体→昆明种真孕受体	16	—	—	4	4	100	6	38



图 2 C₅₇ 供体鼠的胚胎移入昆明品系真孕鼠子宫后产下的仔鼠 (黑鼠为 C₅₇ 品系)

讨 论

1. 本文所介绍的小鼠早期胚胎移植方法简便易行, 不需要特殊的显微操作设备和冲洗液, 而只需用普通的微量注射器作移植器和一般冲洗液即可进行胚胎移植操作, 且着床率较高 (67.3%), 因此, 该方法适宜于一般试验室使用。Gates 将 160 个胚泡移入 40 只受体, 受体受胎率为 50%, 胚胎成活率为 38.75%。

2. 我们也做了少量不同天数的小鼠供体和

受体胚胎移植的试验, 从试验结果证明将真孕鼠 4 天上午的胚胎移植到 3 天上午的假孕鼠子官内则着床率最高。

3. 采用上述方法进行小鼠的胚胎移植操作过程中须注意以下几点:

(1) 要选择内管直径 (100 μ) 适宜的微量注射器作为移植器。

(2) 注射的液体量要极微, 须控制在 0.5 微升之内, 切忌带人气泡。

(3) 移植结束, 从子宫拔出移植器时必须先将微管口向下后再抽出, 这样可避免胚胎随移植器带出体外。

(4) 整个操作过程尽量在 20 分钟内完成, 要减少胚胎在体外滞留的时间; 室温最好控制在 20—25°C。

参 考 文 献

- [1] 王培生等 1980 小鼠早期胚胎移植技术的研究 遗传 2 (5): 42—43。
- [2] 吕容真等 1985 介绍一种简单的小鼠卵子移植技术 生物学通报 (12): 36。
- [3] Beatty, R. A. 1951 Transplantation of mouse eggs *Nature*, Lond. 168: 995.
- [4] Dickmann, Z. 1982 Egg transfer in the mouse and rat. "In Mammalian egg transfer" Editor C. E. Adams 19—26.
- [5] Hornstein, M., O. Rottmann. 1982 Non-surgical embryo transfer in the mouse. *Wissenschaftlicher Dienst Alete* 136—137.
- [6] McLaren A. and D. Michie 1956 Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine fostermother I. Factors affecting the implantation and survival native and transferred eggs. *J. Exp. Biol.* 33: 394—416
- [7] ————— 1959 Studies on the transfer of fertilized mouse eggs to uterine fostermothers II: The effect of transferring large numbers of eggs. *J. Exp. Biol.* 36: 40.
- [8] Marsk L. and K. S. Larsson 1974 A simple method for non-surgical blastocyst transfer in mice. *J. Reprod. Fertil.* 37: 393—398.
- [9] Tarkowski, A. K. 1959 Experiments on the transplantation of ova in mice. *Acta Theriologica* 2: 251—267.