



## 绵羊体外受精卵的发育及冷冻保存的研究

刘东军 张锁链 庞也非 薛晓先 麇洪武 海青兰 斯 琴 旭日干

(内蒙古大学实验动物研究中心,呼和浩特市 010021)

本研究主要探讨了绵羊体外受精卵在不同培养条件下的发育能力,并对体外发育至桑椹胚或囊胚的体外受精胚进行了冷冻保存。

从采自屠宰场的绵羊卵巢中采集卵母细胞,用含有 10% FCS (或 NSS)、hCG、E<sub>2</sub> 和 HEPES 的 M199 培养 24—26 小时,再以用 Ionophore A23187 诱导获能的新鲜精子进行受精。受精后 6—8 小时将卵子移入含有 10% FCS (或 NSS)、丙酮酸钠、HEPES 的 M199 发育用培养基中进行培养。受精 72

小时后, FCS 组和 NSS 组的卵裂率分别为 36.9% 和 45.2%, 后者显著高于前者。继续培养 7—10 天, 桑椹胚—囊胚的发育率分别为 11.6% 和 23.4%, 两者间差异极显著, 表明在 M199 培养液内添加 NSS 的培养效果明显优于添加 FCS。选择发育正常的桑椹胚或囊胚, 移入 PBS + 20% FCS + 10% 乙二醇的冷冻保护液中平衡 20 分钟, 装管后置于胚胎冷冻机中进行冷冻, 冷冻程序为: 从室温直接置于 -7℃ 的胚胎冷冻机中, 5 分钟后进行人工植

冰, 平衡 10 分钟后以 0.3℃/分 的速度降温至 -30℃, 然后投入液氮。解冻时将胚胎直接置于 37℃ 水浴中, 然后分别移入 PBS + 20% FCS + 6% 乙二醇、PBS + 20% FCS + 3% 乙二醇、PBS + 20% FCS 液中, 每步平衡 10 分钟。冷冻保存后桑椹胚和囊胚的形态正常率分别为 82.0% 和 71.9%, 两者间无显著差异, 表明桑椹胚和囊胚的冷冻效果无明显不同。这一实验结果与采用体内受精胚进行冷冻保存的效果大致相同。 (1991 年 9 月 23 日收)