

Mouse In Vitro Fertilization (IVF)

南京爱贝生物科技有限公司提供全套 **EasyCheck®** 小鼠体外受精、胚胎冷冻、胚胎移植试剂与耗材。提供小鼠胚胎玻璃化冷冻、精子冷冻、**IVF**、**ICSI**、输卵管胚胎移植、非手术法子宫胚胎移植等技术培训及视频资料。

www.njabsw.net njabsw@163.com

客服: **025-66068668 15850505817**

小鼠体外受精操作方案

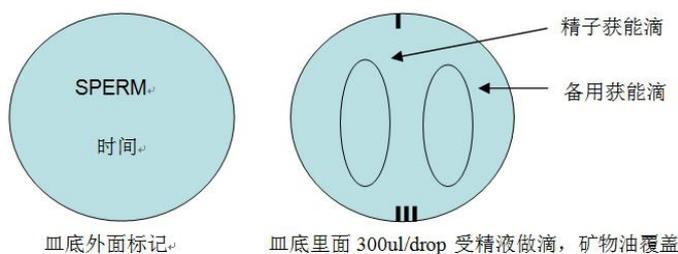
1、培养液配制

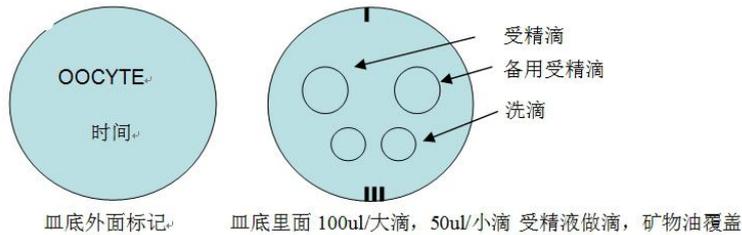
HTF component	g/100ml
NaCl	0.59375
KCl	0.03496
K ₂ HPO ₄	0.00504
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.00492
Glucose	0.0500
Sodium lactate	342ul
NaHCO ₃	0.2100
NaPruvate	0.0037
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.0600
Phenol red	少许

按以上配方配制 1× 的工作液，过滤后 4℃ 保存。

受精液：以上工作液添加 10mg/ml 的 BSA，过滤后分装备用，4℃ 保存，不超过 2 周。

2、受精皿准备





注：卵子受精皿按 3 只小鼠/皿计算做盘，平衡过夜。

3、精子的获能

母鼠 HCG 注射后 14-15h，断颈处死公鼠，开腹取出睾丸，在附睾尾用 5 号剪刀做小的横切口，待精子溢出后，用弯镊夹取精子，放入精子滴中。培养箱孵育 10min，取出体视镜下观察，精子扩散后，放入培养箱继续孵育 50min 后可用。若精子不扩散，则换另一只公鼠采精，用备用精子获能滴。

4、MII 期卵子的获取

三周龄母鼠，PMSG10IU/只，腹腔注射，48h 后 HCG 10IU/只，腹腔注射；15-16h 后断颈处死，按体外成熟方案中方法开腹，理断子宫系膜后，镊子均匀加力，可以看到卵巢囊末端与输卵管前端分开，剪刀贴卵巢剪断系膜，另一侧在宫管结合部剪断，将输卵管放入卵子皿的两个大滴中间的矿物油中。同法处理对侧及其他两只小鼠。将有输卵管的皿移至体视镜下，用两个 1ml 注射器针头配合切开输卵管壶腹部，释放 COC，将 COC 牵引至左侧受精液滴，若排卵数量很大，则一部分分入右侧备用受精滴。

5、IVF

灭菌的宽径枪头（将枪头用手术刀切除尖部，扩大开口面积，减少精子刮伤），吸取 5-15ul 精子至受精滴中，放入培养箱受精。精子密度 $1-5 \times 10^6$ 为宜（以放入培养箱中 10min 后能看到 COC 被精子打散，精子能推动 COC 运动即可）。整个受精过程以 5min 内完成为宜（杀鼠到受精入箱）。受精 2h 后，将受精卵从受精滴中洗去多余精子，放入洗滴中，继续培养 4h，观察原核形成情况，以形成原核和排出 PB2 为受精标志，计算受精率。同时注意观察多原核（多精子穿卵）比率，确定多精子受精情况。

6、将受精卵移至培养滴继续体外培养。

附表 1 HTF 胚胎培养液配制

Table1 Formulation of HTF solution for embryo culture

成分 (Ingredient)	分子量 M (Mol.)	使用重量 g/100ML(Weight)
NaCl	58.45	0.593852
KCl	74.56	0.034968
CaCl ₂ ·2H ₂ O	147.20	0.06
KH ₂ PO ₄	136.10	0.00504

(H ₂ O/H ₂ O FREE)MgSO ₄	246.50	0.0492/0.0239
NaHCO ₃	84.02	0.21
乳酸钠	112.10	0.342ml
丙酮酸钠	110.00	0.0365
葡萄糖	198.17	0.05
BSA	—	0.4
青霉素	—	0.0075
链霉素	—	0.005

注：将配制的 HTF 胚胎培养液调整好 pH4.2-4.4 值，滤菌后，保存于 4℃，两周内用完

Note: Check pH for 4.2-4.4 of prepared HTF culture solutions, sterile-filter into a bottle, and store at 4℃ for two weeks.

附表 2 无钙 CZB 胚胎培养液配制

Table1 Formulation of KSOM solution for embryo culture

成分 Ingredient	分子量 M Mol.	100ml 使用重量 g Weight
NaCl	58.45	0.555
KCl	74.557	0.0186
KH ₂ PO ₄	136.091	0.00476
MgSO ₄	120.37	4.95
CaCl ₂ ·2H ₂ O	147.20	0.025
NaHCO ₃	84.02	0.210
乳酸钠	112.1	0.174 ml
丙酮酸钠	110.0	0.0022
葡萄糖	180.16	0.0036
谷氨酰胺	146.1	0.0146
EDTA.2Na		0.0038
BSA	—	0.100
MEM NEAA	—	1ML
MEM EAA	—	2ML
青霉素	372.5	0.006
链霉素	1457.4	0.005
MEM Essential Amino Acids	—	1.0 ml
MEM Non-essential AA	—	0.5 ml

注：将配制的 KSOM 胚胎培养液调整好 pH 4.2-4.4，滤菌后，保存于 4℃，两周内用完

Note: Check pH for 4.2-4.4 of prepared KSOM culture solutions, sterile-filter into a bottle, and store at 4℃ for two weeks