



# 南京爱贝生物科技有限公司

## R18S3 小鼠精子冻存液使用说明书 v2.0

型号：M2720

规格：2ml\*10 支/盒 1 支 100ul 硫代甘油 (Monothioglycerol,MTG)

保存条件：精子冻存液室温避光保存，请勿冻存，请勿 4℃保存；MTG 室温临时存放，4℃长期保存

本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

### 冷冻步骤

1. 颈椎脱臼法处死成年雄鼠，腹部用 75%酒精消毒后，剪开皮肤和肌肉，小心拉出睾丸，暴露附睾，用眼科剪分离脂肪、血管和韧带等组织，剪下附睾，放入 120ul 的冷冻保护剂液滴中，用 1ml 注射器划开附睾，待精子流出后，将组织去除，用移液器轻柔吹打使精子和冷冻保护剂充分混合。



2. 将 0.25ml 麦管通过麦管连接器与 1ml 注射器连接，吸入约 100ul HTF 培养液，吸入 1cm 空气，再吸入 10ul 左右精子悬浮液，最后再吸入空气，用麦管封口机（本公司有售）热封口。（没有封口机可用金属镊子烧红后夹住麦管尾部封口，吸入 100ulHTF 培养液目的是防止麦管太轻飘在液氮表面，可用生理盐水或 PBS 替代）。



3. 在泡沫盒中倒入液氮，液氮液面距离泡沫盒最上缘约 5-10cm，将麦管平放在泡沫盒边缘，液氮蒸汽预冷 10 分钟后用金属镊迅速将麦管浸入液氮中。

4. 精子冻存液中添加硫代甘油（Monothioglycerol, MTG）可有效提高精子复苏率。建议现配现用，请勿将添加 MTG 的精子冻存液冷冻或冷藏。MTG 在精子冻存液内的终浓度为 447 $\mu$ M，即 0.04ul/ml。建议稀释步骤：（1）取一支 2ml 精子冻存液，加入 16ulMTG，反复颠倒混匀，MTG 终浓度为 8ul/ml，此管为 MTG 浓缩液。（2）取 10ulMTG 浓缩液，加入另外 1 支精子冻存液中，反复颠倒混匀，MTG 终浓度为 0.04ul/ml。MTG 浓缩液可以分装冻存，也可以用 PBS 或生理盐水稀释 MTG，配制 MTG 浓缩液。

## 解冻步骤

1. 水浴加热至 37 $^{\circ}$ C，用镊子将麦管从液氮罐中取出，迅速移到水浴中解冻 15min。（冷冻后小鼠精子对环境适应性较弱，请动作迅速，小心操作）。

2. 从水浴中取出麦管，纱布擦干表面，将两端封口处剪开，通过连接管与 1ml 注射器连接，将精子

悬液打入已经预热平衡好的 200ul HTF 培养液滴中，置于 CO<sub>2</sub> 培养箱获能 50 分钟。

3. 冷冻复苏精子的体外受精或 ICSI，请参考本公司小鼠 IVF 技术资料。

组分	浓度
棉子糖 Raffinose pentahydrate	18%
脱脂奶粉 Dehydrated skim milk	3%
L-谷氨酰胺 L-Glutamine	100mM
硫代甘油 Monothioglycerol,MTG	447uM (自行添加)
庆大霉素	0.025g/L

\*用热稳定的庆大霉素替代双抗（青霉素-链霉素溶液）

—Richard Behringer, Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual (Fourth Edition)

## 联系方式

手 机：17130388944、18795466004（销售，微信同号）

办 公 室：025-66068668（9:00-18:00）

电子邮件：njabsw@163.com

QQ：3595143129（销售）、1497503894（技术支持）

地 址：江苏省南京市鼓楼区洪庙一巷 5 号红五月硅巷 1 栋 408