

HTF 使用说明书

货号: BN80001

规格: 1ml; 2ml

贮存: 2-8℃保存,冰块运输

因为开封使用后试剂品质会逐渐变差,所以请务必一次性用完。

超数排卵处理

在下午 4:00 -7:00 之间对 3-5w 或 9-12w 的雌鼠注射孕马血清 (Pregnant Mare Serum Gonadotropin, PMSG), 10IU/只。

在注射 PMSG 47h 后,给小鼠注射同样量的人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG), 10IU/只。根据早上卵子收集的时间 (为了得到质量佳的卵子尽可能的在注射 HCG 16-18h 收集)。

微滴的准备

按照一下顺序制作 HTF 培养液微滴后,放入二氧化碳培养箱静置,使其平衡化 (建议静置过夜)。

采取精子用: 在培养皿内注入 150 微升 HTF 培养液,制作成微滴后,用矿物油覆盖培养液。

采取卵子用: 在两个培养皿内分别注入 200 微升、100 微升的 HTF 培养液,制作成微滴后,用矿物油覆盖培养液。

采取精子

先将全部的解剖用具进行酒精消毒。

- ① 对 1~2 只的成年雄性小鼠实行安乐死,用解剖剪和眼科镊取出睾丸、附睾以及脂肪的一部分,再放在滤纸上,切取附睾尾部,去除上面的血液和脂肪。
- ② 用眼科镊固定住附睾尾部后,再用显微剪刀 (维纳斯剪) 剪开附睾尾部。
- ③ 用解剖针轻轻压附睾尾部表面,将精子从附睾尾部的开口部位挤出。
- ④ 用解剖针挑起被挤出来的精子块,然后导入准备好的采取精子用的培养皿内。(150 微升培养液内放入两个附睾尾部的精子)
- ⑤ 将精子导入 HTF 培养液内,再放入二氧化碳培养箱 (37℃ 5%CO₂ 95%空气) 进行 90 分钟的前培养。

采取卵子

本产品仅用于科研

先将全部的解剖用具进行酒精消毒。

- ① 进行超排处理后的雌性小鼠在注射 hCG15~17 小时后，对其进行安乐死，取出子宫、输卵管、卵巢以及脂肪的一部分，放在滤纸上切取输卵管，再除去血液和脂肪。
- ② 将输卵管放入采取卵子用培养皿内的矿物油中。
- ③ 用眼科镊将输卵管固定在培养皿的底部，再用解剖针撕开输卵管的壶腹部，将放出的卵子块导入 200 微升的 HTF 培养液中。
- ④ 采取卵子后，将采取卵子用培养皿放入二氧化碳培养箱内静置。

体外受精~受精的确认

- ① 从前培养后的精子浑浊液内（采取精子用培养皿），吸取 2 微升精子，加入至含有卵子块的培养皿内。
 - ② 将受精用的培养皿放入二氧化碳培养箱（37℃ 5%CO₂ 95%空气）进行培养。
 - ③ 受精 5~6 个小时后，用玻璃制作的移卵管吸出形态正常的卵子，导入采取卵子用培养皿 100 微升 HTF，进行清洗。
 - ④ 仔细观察卵子，去除未受精卵后，继续培养至第二天。
 - ⑤ 第二天（受精 24~28 小时后）计算 2 细胞期胚胎数后，进行胚胎移植或者冷冻保存用。
- 注意：得到的 2 细胞期胚胎在体外培养只能到囊胚期，进行培养时用的是 KSOM 培养液。