

小鼠非手术胚胎移植器简介

(Transcervical embryo transfer device, TCET)

小鼠非手术法胚胎移植虽然早在 1951 年就出现了，但由于移植成功率很低而一直没有得到普遍应用。经过多年不懈努力，河北农大李相运博士终于建立了高效小鼠非手术胚胎移植技术，居国际领先水平。利用该技术可以简便快捷地将囊胚或桑椹胚通过子宫颈移入子宫角内，只需几十秒钟就可完成操作过程，节省费用、不需手术、不易感染、无痛苦、符合实验动物福利原则，而且移植效率高于手术法胚胎移植。以 CD-1 小鼠为例，如果将自然妊娠 3.5 天囊胚（或桑椹胚）移植假孕 2.5 天 CD-1 受体小鼠子宫，80%以上的受体小鼠可以妊娠，70%以上的移植胚胎可以出生成活胎儿。该技术可用于以下几个方面：（1）通过非手术法，将早期囊胚或桑椹胚移入小鼠或大鼠的单侧子宫角内；（2）通过非手术法，向小鼠或大鼠的子宫角内注射空气、植物油、玻璃珠或其他刺激物而诱导子宫内膜蜕膜化；（3）通过非手术法，向小鼠或大鼠的子宫角内移植实验材料，如药物、病毒、抗体、基因等；（4）通过非手术法，向小鼠或大鼠的子宫角内移植精液；（5）更重要的是，该技术可以作为研究人类和其他动物非手术胚胎移植技术的动物模型；（6）用于开发其他小动物非手术胚胎移植技术，如兔子、仓鼠、树鼩、狗、猴子等。

一、TCET 使用方法：

（1）在 35mm 或者 60mm 的培养皿的底部做 3 个 50 微升的液滴（M2、KSOM、或者添加 0.2% BSA 的 PBS 等都可以作为移植液使用），体视显微镜调至最小倍数，将要移植的胚胎洗剂后 6-12 枚紧密聚集在一起，使胚胎在视野中所处的位置尽量靠近视野上部边沿。

（2）左手持 TCET，使之以接近垂直的方向靠近胚胎，同时，右手捏住 TCET 手柄，先吸取 2mm 空气，然后再缓慢吸取胚胎，吸取胚胎的液体的长度最好控制在 2mm-4mm 之间，越少越好。吸好胚胎后，再在 TCET 的顶端吸 2mm 空气，然后水平放置 TCET。

（3）受体小鼠保定于鼠盒盖子上面（对于初次使用者，最好先将小鼠麻醉，熟练掌握该技术后，可以不麻醉），将开膈管放入小鼠阴道，轻轻下压开膈管，使子宫颈口突入开膈管内，在长臂纤维光源灯下观察子宫颈口，如果子宫颈口周围有粘液，可用棉签轻轻除去粘液，大多数情况下，受体小鼠子宫颈口外观呈 ∞ 字型，TCET 紧靠子宫颈口腹部一侧（即 ∞ 字型的右侧）进入。

（4）右手持 TCET，使 TCET 的弧度向外，进入子宫颈口 5mm 后，右手持 TCET 顺时针旋转 90 度，缓慢进入 TCET，直至 TCET 的黄色标记管接触到子宫颈口，如果中途遇到阻

力即可停止，停留 15 秒，左手固定 TCET，右手按压 TCET 手柄，双手松开 TCET，然后缓慢旋转退出 TCET。

(5) 移植完成后，检查 TCET 内是否遗留胚胎。

二、移植注意细节：

(1) 该技术选用 8 周龄、体重 26 克以上的 CD-1 小鼠作为受体，该小鼠比较温顺，即使不麻醉也容易保定。昆明鼠也可作为受体。在准备假孕受体时，必须挑选自然发情的小鼠与结扎公鼠交配，受体鼠不能进行激素超排处理。

(2) 对于初学者，可用成年小鼠多次练习 TCET 技术，且移植前最好先将小鼠麻醉，这样便于观察子宫颈口和插入 TCET，当熟练掌握该技术后，可以不用麻醉。

(3) 可将囊胚或桑椹胚移入假孕 2.5 天小鼠子宫，也可将囊胚移入假孕 3.5 天的子宫，但出生率会下降。

(4) 避免在吸取胚胎的过程中在管壁内侧形成气泡。

(5) 如果插入 TCET 时遇到阻力，不要强行用力插入，这样可能导致扎穿子宫。或者更换另一只受体，因此，在每次胚胎移植时，最好多准备 1-2 只受体小鼠。

(6) 为了确保胚胎移植成功率，TCET 最好不要反复使用。

三、TCET 产品信息：

每支 TCET 移植器独立包装，辐照灭菌，每盒 10 支，一次性使用。

联系人：李老师

电话：0312-7528459

微信：Lxy7528459

Email: Lxyun@hebau.edu.cn

地址：河北省保定市乐凯南大街河北农业大学（西校区）动物科技学院胚胎工程实验室。

Fig 1. TCET Device

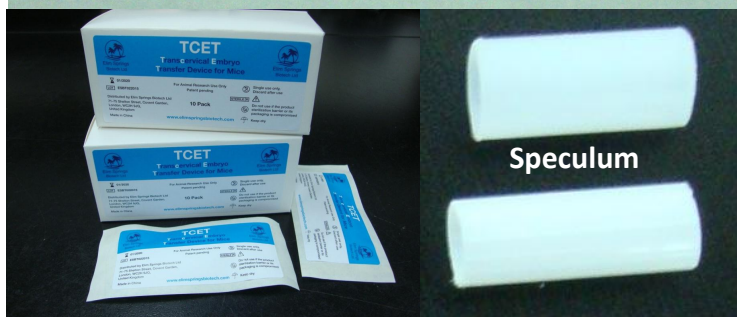
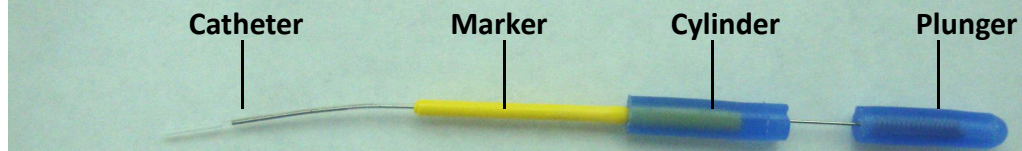


Fig 2. Embryo Loading Technique

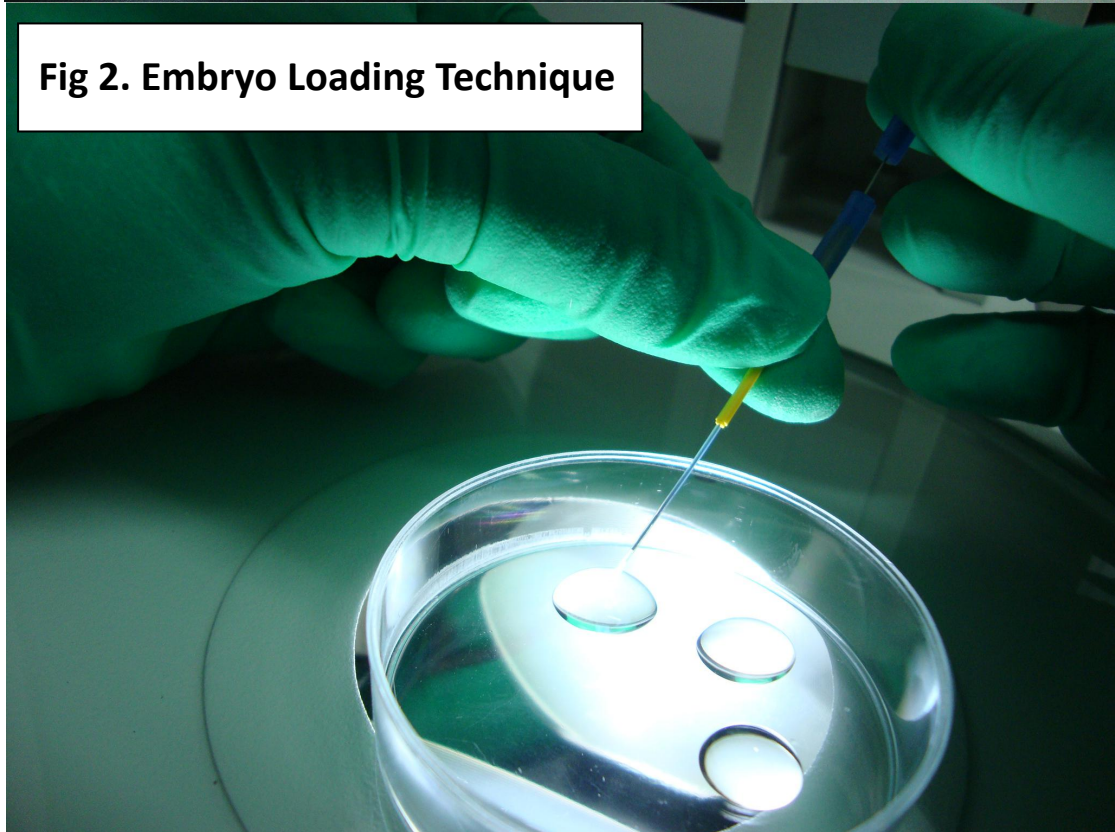


Fig 3. Embryo Loading

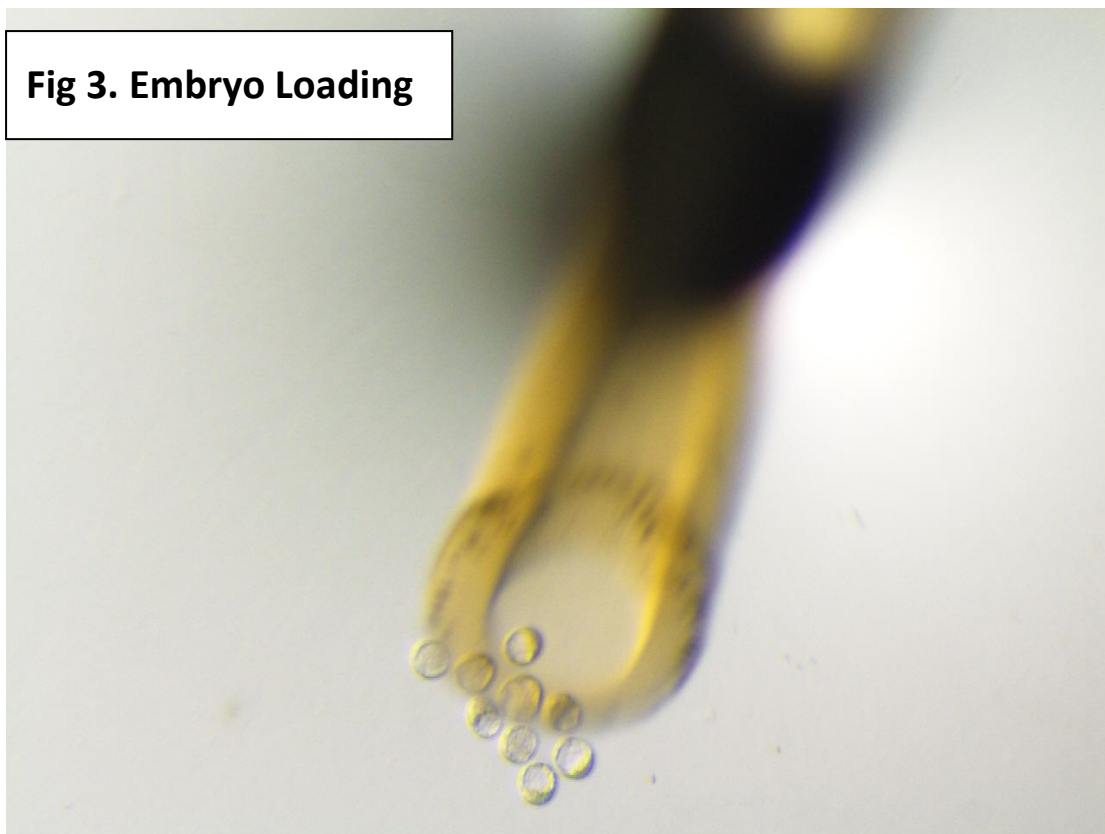


Fig 4. Embryo Loaded



Fig 5. Vagina Speculum



Fig 6. Cervical Opening

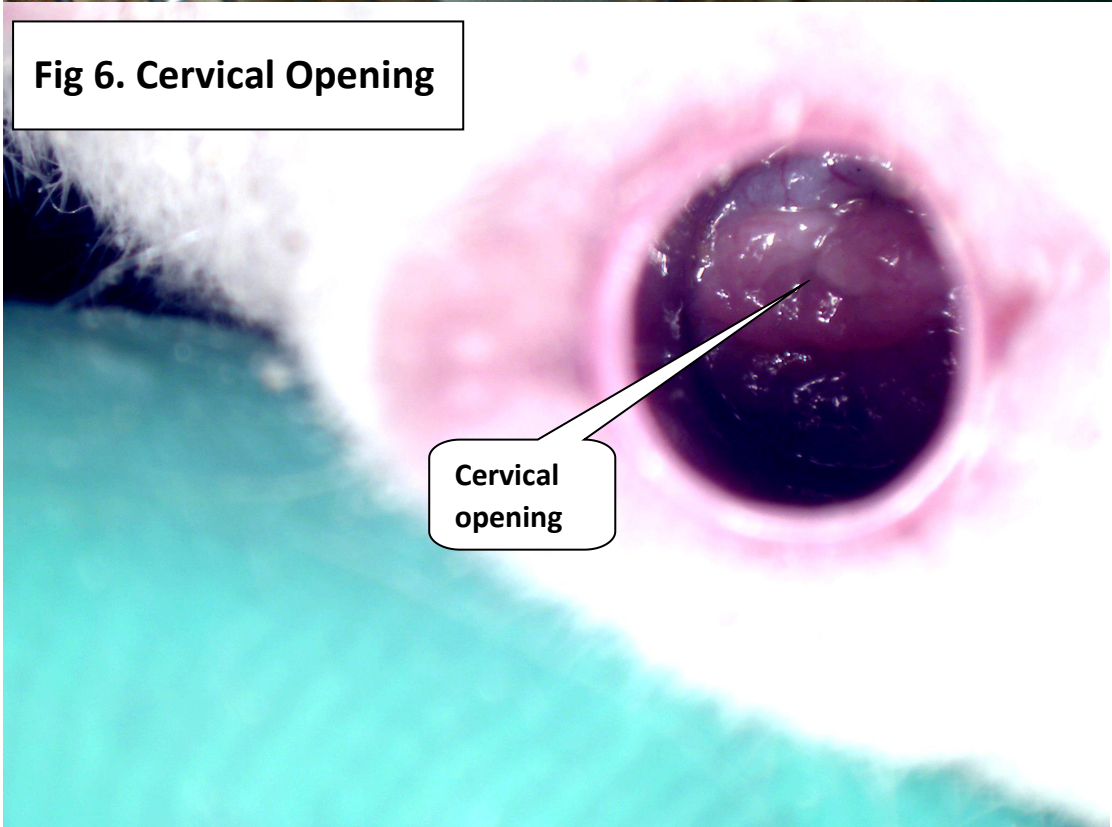


Fig 7. Cervical Vertical View

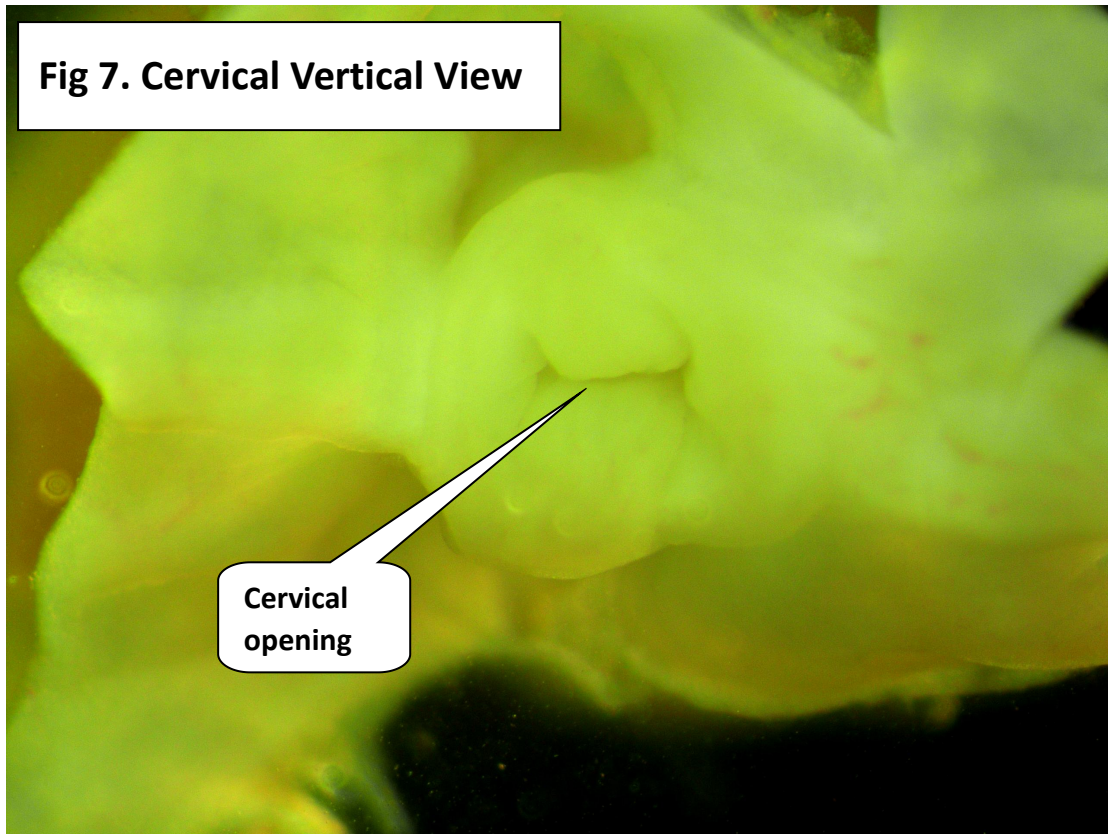


Fig 8. Cervical Sectional View

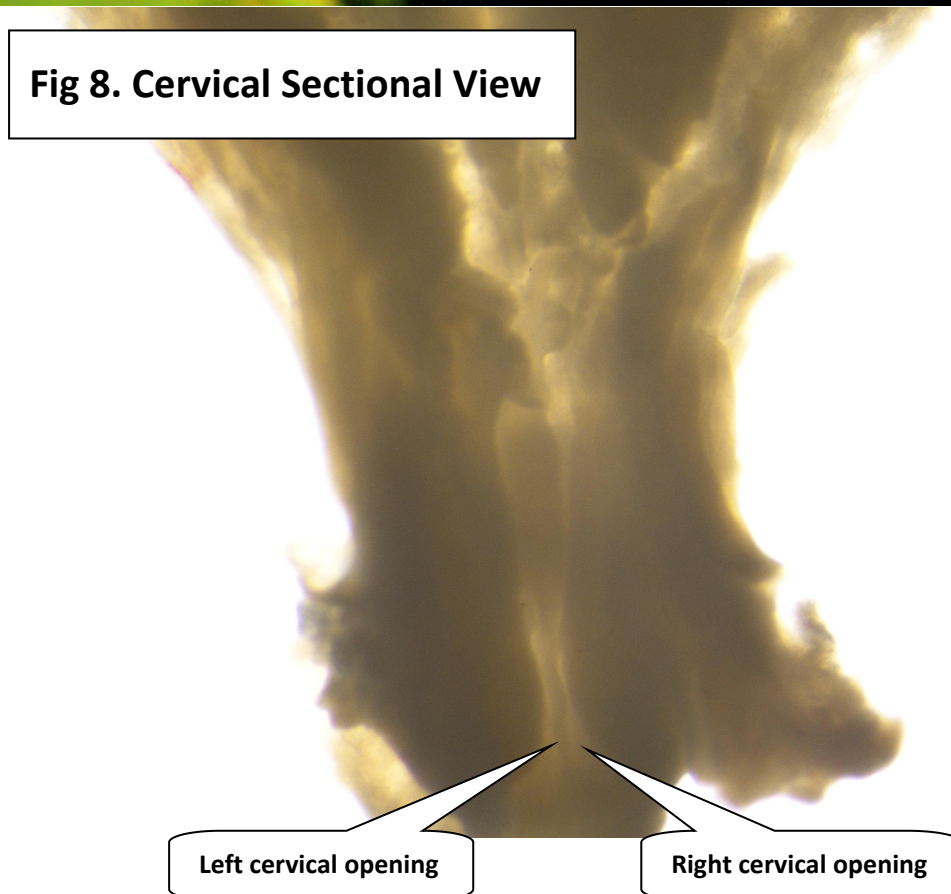


Fig 9. TCET Inserting

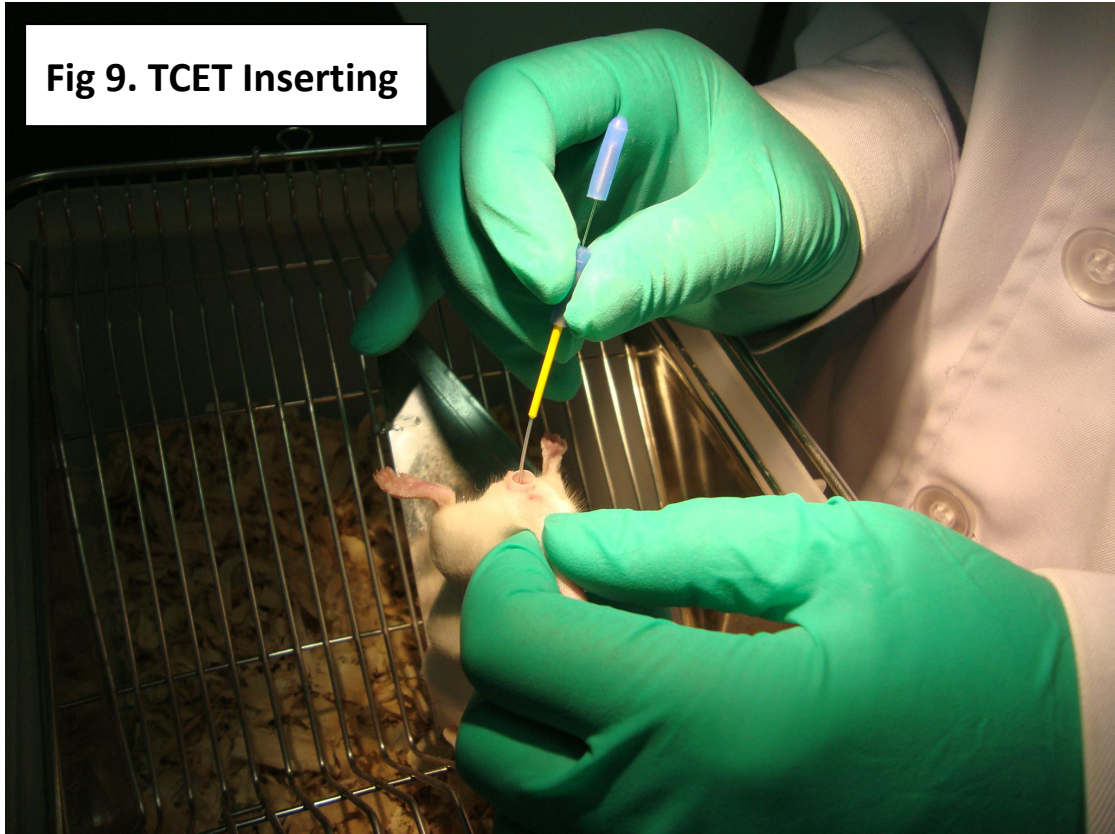


Fig 10. TCET Inserted

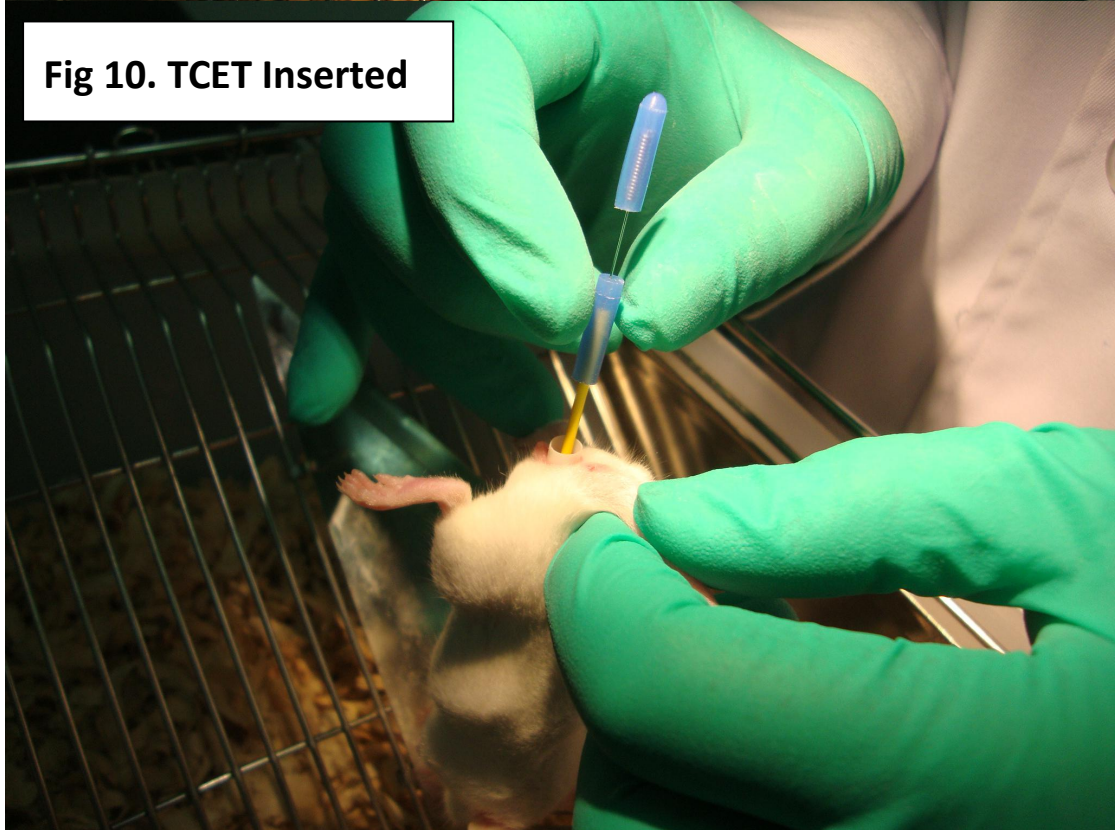


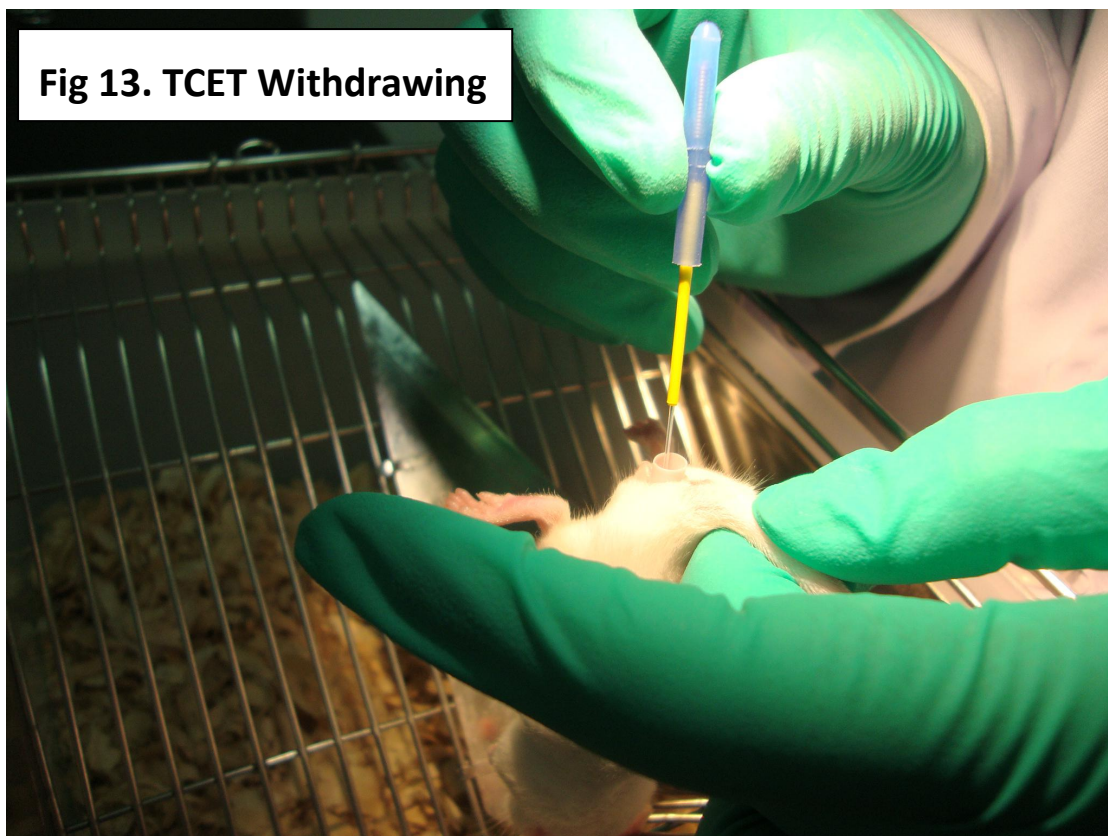
Fig 11. TCET Holding



Fig 12. Embryo Ejecting



Fig 13. TCET Withdrawing



**Fig 14. Rat Cervical Opening
(Sectional View)**

