

小鼠卵母细胞体外受精操作流程（冻精）

所需产品信息

产品名称
HTF 小鼠体外受精培养基
c-TYH 小鼠精子获能液
KSOM 小鼠胚胎培养基
胚胎培养用油

HTF、KSOM 培养液的平衡（平衡时间为 2h 以上，建议提前一天平衡）

- 用于精子获能：获能皿（90 μ L c-TYH，覆胚胎培养用油，1 个滴对应 1 根麦管）置于 37°C、5% CO₂ 培养箱平衡
- 用于体外受精：受精皿（90 μ L HTF，覆胚胎培养用油，1 个滴对应 1 只母鼠）置于 37°C、5% CO₂ 培养箱平衡
- 用于受精后的清洗：提前一天平衡 HTF 溶液（受精后的清洗以约 5~6 只母鼠为 1 轮计算）（离心管拧松盖子置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中平衡）；
- 用于放入培养皿前的清洗：提前一天平衡 KSOM 溶液（离心管拧松盖子置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中平衡）
- 用于胚胎培养：提前一天制作 KSOM 培养皿并置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中平衡（30 μ L/滴，覆胚胎培养用油，每滴可培养 20~30 颗鼠胚）

体外受精操作流程

1. 准备 500mL 烧杯，水温 30°C，转速 800RPM，迅速从液氮中取出冻精冷冻麦管，在空气中轻摇 6s 后，将麦管投入 30°C 水浴 1min（800RPM），有精子端朝下，保证完全浸泡在水浴中。
2. 剪开冷冻麦管两端，将精子推到 90 μ L 的液滴中，获能 30min；
3. 将母鼠逐只解剖，将输卵管置于 35mm 小皿中，细胞夹固定输卵管壶腹部并用针头划破，使 COCs 流出，将 COCs 吹打散开；
4. 将 COCs 转移到受精皿中，加入 10 μ L 获能好的精子，轻轻晃匀，置于三气培养箱（37°C、5% O₂、5% CO₂）中受精 4-5h。

体外受精后清洗及培养操作流程

1. 将 5~6 个受精滴里的已完成受精的受精卵全部转移到清洗滴皿（每轮使用 4*300 μ L HTF 于 90 mm 皿中），每个滴清洗 3 次，依次经过 4 个 HTF 清洗滴；
2. 再用平衡好的 KSOM 溶液做一个 300 μ L 的清洗滴，将洗完 HTF 的合子移到 KSOM 清洗滴中清洗 3 次。

*建议：每个滴换 3 个位置各洗 1 次，共 3 次。每轮更换一个清洗皿（一个清洗皿可以同时

处理 5~6 个受精皿，即 5~6 只母鼠)。

3. 将清洗后的受精卵转移到 KSOM 培养皿中，建议每滴 (30uL/滴) 培养 20~30 颗鼠胚，置于三气培养箱 (37°C、5%O₂、5%CO₂) 培养

相关产品

Biorocks 有一整套用于科研辅助生育的产品。请致电或前往官网索取相关信息或我们最新的产品目录。询问技术问题请发邮件联系或联系销售经理。

邮箱: supports@bio-rocks.com

官网网址: www.biorocks.net

Biorocks