

PMSG配合LH促使小鼠超数排卵试验

钱菊汾

(西北农业大学兽医系)

摘 要

用四组不同剂量的孕马血清促性腺激素(PMSG)与促黄体素(LH)配合,对瑞士小鼠作超数排卵效果的比较表明,4.5 IU PMSG分别与4.5或6 IU LH配合,是促使瑞士小鼠超数排卵的适宜剂量,其超排的排卵率分别为 29.7 ± 11.7 和 32.6 ± 20.01 ,显著高于($P < 0.01$)对照组的自然排卵(8.8 ± 1.64)。超排胚胎的活力用体外培养法证明是可靠的。但这两种超排方法不能应用于LACA小鼠。

关键词: 孕马血清促性腺激素; 促黄体素; 超数排卵; 瑞士小鼠

当前进行家畜胚胎移植及其延伸技术,如胚胎冷冻、培养、切割及体外受精等方面的研究,往往先用实验动物,尤其用小鼠进行试验,然后再应用于家畜,能否获得大量可用的胚胎是胚胎移植业中取得效益的关键环节,故超排处理的效果非常重要。对小鼠的超排处理,目前国内外多用PMSG配合HCG,各5 IU^[1-3];用PMSG配合LH则未见报道。Brinster et al^[4]曾用PMSG+LH各2 IU处理过小鼠8但其目的是促排,不是促超排。本试验旨在确定PMSG+LH对瑞士小鼠促超排的有效剂量,比较对不同品系小鼠的超排效果。

1 材料和方法

1.1 试验动物与分组

33只健康的性成熟雌性瑞士小鼠,体重22~32g。按不同剂量的PMSG+LH,分为四组。第一组:PMSG 2 IU, LH 4.5 IU, 5只;第二组:PMSG 4.5 IU, LH 4.5 IU, 9只;第三组:PMSG 7 IU, LH 4.5 IU, 5只;第四组:PMSG 4.5 IU, LH 6 IU, 5只。第五组:未加激素处理,作为对照组, 9只。另用8只雌性LACA小鼠,体重24~31克,按上述第二组(5只)和第四组(3只)的剂量分别处理,与瑞士小鼠作比较。

1.2 试剂

PMSG(长春生物制品研究所生产,兽用,批号82-2, 83-17); LH(武汉生化制药厂生产,兽用,批号800108, 860202)。

1.3 超排处理与胚胎回收

PMSG与LH均用生理盐水溶解,临用时配制。每次于下午4时给小鼠背部皮下注射一次PMSG所需剂量,48小时后,再背部皮下注射LH所需剂量。注射完毕,立即放入同品系

1986年6月17日收到原稿,1987年10月16日收到修改稿。

本课题为王建辰教授主持的国家自然科学基金资助项目“家畜胚胎移植的研究”内容之一。

公鼠(30~36g),每罐公、母各一,翌晨观察阴道栓。见栓后第二天或第三天,回收输卵管胚胎,镜检。根据形态观察,分别记录正常发育的胚胎数和不正常卵数(后者包括单细胞、停止发育的胚胎、碎裂卵和空透明带)。

1.4 体外培养

用有效剂量超排的2-细胞胚138枚,进行体外培养鉴定超排胚胎的活力。

培养液和培养方法参考陈秀兰^[5]方法。其培养液为改良的Whiffen液, pH7.2。胚胎放入盛有0.4毫升培养液的小试管内,通入含有5%CO₂, 5%O₂和90%N₂的混合气体,密封置37℃隔水式恒温箱内,连续培养三天后镜检。分别记载不同发育阶段的胚胎数(包括停止发育或退化的胚胎数)。

2 结果和讨论

2.1 不同剂量的超排效果(表1)

表1 PMSG+LH对瑞士小鼠的超排效果

组别	PMSG (IU)	LH (IU)	小鼠数	回收胚胎总数	平均回收胚胎数	正常发育胚胎%	不正常卵%	相当于对照组倍数
一	2	4.5	5	57	11.4±1.5	94.7	5.3	1.3
二	4.5	4.5	9	267	29.7±11.7**	90.3	9.7	3.4
三	7	4.5	5	126	25.2±12.5*	24.6	75.4	2.9
四	4.5	6	5	175	32.6±20.01**	97.7	2.3	3.7
五(对照)	—	—	9	79	8.8±1.64	100	—	—

从表1知,第一组与对照组相比,平均回收胚胎数差别不大($P>0.05$),看来,2 IU PMSG与4.5 IU LH配合,只能诱发排卵,而无超排效果,这与Brinster^[4]的报道类似。第三组的平均回收胚胎数,为对照组的3.1倍,两组间有显著差异($P<0.05$)但回收的75.4%为不正常卵,可能PMSG为7 IU时,影响了卵子的质量。因而第三组的剂量不适于作超排处理。第二组和第四组的平均回收胚胎数,分别为对照组的3.4和3.7倍,它们与对照组间差异均极显著($P<0.01$),且回收胚胎的90%以上都发育正常。因而,4.5 IU PMSG与4.5或6 IU LH相配合,是促使瑞士小鼠超数排卵的适宜剂量,它们与PMSG+HCG各5 IU的配合剂量相近似。1987年,又用PMSG+LH各5 IU对20只青年母鼠作超排处理,预期取得了每只鼠平均回收31.8个(80%为正常)胚胎的良好超排效果。这就进一步证明用PMSG配合LH对瑞士小鼠作超排处理是可行的, LH适宜剂量在4.5 IU至6 IU之间。

2.2 超排2-细胞胚的体外培养效果

用适宜剂量的PMSG+LH对瑞士小鼠作超排处理,将回收的正常2-细胞胚138枚通过体外培养,观察其活力(结果见表2)。由表2可见,发育到桑椹胚38个,囊胚57个,总发育率达68.8%(95/138),更进一步证明超排处理获得的胚胎,其质量是可靠的。故4.5 IU PMSG配合4.5或6 IU LH适用于瑞士小鼠的超排处理,可在实际中应用。

2.3 不同品系小鼠超排效果的比较

用4.5 IU PMSG与4.5 IU或6 IU LH两种配方,分别处理瑞士和LACA小鼠。前一配

表2 超排2-细胞胚的体外培养结果

组 ¹⁾ 别	培养前 2-细胞胚数	培养后的胚胎数			发育率 %	
		不正常胚	桑椹胚	囊胚 ²⁾	桑椹胚	囊胚 ²⁾
血清组	110	36	36	38	67.2	34.5
白蛋白组	28	7	2	16	75	67.9
合计	138	43	38	57	68.8% (95/138)	

注: 1) 按培养液中补加成分不同而分组; 2) 包括早期囊胚和扩张胚泡。

方处理LACA小鼠回收的胚胎数极显著 ($P < 0.01$) 低于瑞士小鼠; 后一配方处理, 结果类似 (见表3)。表3表明品系不同, 促使超排的适宜剂量也不同。本试验证实了Hsu^[1]的观点, 亦与孙海源等^[6]家兔超排试验结果相似。故对瑞士小鼠超排处理的适宜剂量, 不能盲目应用于LACA小鼠的超排, 必须重新确定其有效剂量。因为不同品系的动物, 对同一种激素同一剂量的敏感性是有差异的。

表3 不同品系小鼠超排效果的比较

品系	小鼠数	PMSG	LH	回收胚	每只鼠平均回收
		(IU)	(IU)	胎总数	胚 胎 鼠
瑞 士	9	4.5	4.5	267	29.7±11.7 ^a
LACA	5	4.5	4.5	56	11.2±3.11 ^b
瑞 士	5	4.5	6	163	32.6±20.01
LACA	3	4.5	6	36	12.0±3.46

注: a; b ($P < 0.01$)

参 考 文 献

- 1 Hsu Y-C. In vitro development of whole mouse embryos beyond the implantation stage. In: Daniel J C ed, *Methods in Mammalian Reproduction*. New York: Academic Press, 1978; 229-245
- 2 朱裕鼎等. 哺乳动物 (小鼠和绵羊) 早期胚胎体外培养的研究. 畜牧兽医学报 1984; 15 (1): 2
- 3 张燕林等. 小鼠卵子在体外的受精和发育. 全国第二次生殖生物学学术讨论会论文摘要选编 1982: 66
- 4 Brinster R L. Cultivation of the Mammalian Embryo. In: Rotblat G H eds, *Growth, Nutrition, and Metabolism of Cells in Culture*. Vol. II, New York and London: Academic Press, 1972: 254
- 5 陈秀兰等. 小鼠正常受精卵的离体培养. 中国科学院遗传研究所研究工作年报, 北京大学出版社, 1979: 65-66
- 6 孙海源等. PMSG促使家兔超数排卵试验. 中国科学院遗传研究所研究工作年报, 北京大学出版社, 1979: 32

SUPEROVULATION TEST IN MICE STIMULATED BY PMSG WITH LH

Qian Jufen

(Department of Veterinary Medicine, Northwestern Agricultural University)

Abstract

Four groups of Swiss mice treated with different doses of PMSG with LH for superovulation were compared with the controlled group. The results showed that 4.5 IU PMSG with 4.5 IU or 6 IU respectively was the optimum dose in stimulating superovulation in Swiss mice. The Ovulation number of the superovulated mice was 29.7 ± 11.7 and 32.6 ± 20.01 respectively, which were significantly higher ($P < 0.01$) than that of natural ovulation (8.8 ± 1.64) in the controlled group. It has been proved by in vitro culture that the activity of superovulation embryos are reliable. And yet, these two kinds of superovulation methods can not be applied LACA mice.

Key Words: PMSG; pregnant mare serum gonadotrophin;

LH; luteinizing hormone; superovulation; Swiss mice