

小鼠精子冻存液

货号: BN80005

规格: 2 mL * 10 支/盒 附赠 1 支 100 μ L 硫代甘油 (Monothioglycerol, MTG)

保存条件: 室温避光可保存 4 个月, MTG 室温临时存放, 4 $^{\circ}$ C 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

产品介绍

小鼠精子冻存液, 基于棉子糖和脱脂奶粉配方, 额外添加 L-谷氨酰胺, 能提高精子存活率。本产品需配合精子冷冻麦管、麦管连接器、麦管封口机、精子冷冻麦管漂浮器使用。

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 120 μ L 的冷冻保护剂液滴中, 用 1 mL 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 0.25 mL 麦管通过麦管连接器与 1 mL 注射器连接, 吸入约 100 μ L HTF 培养液, 吸入 1 cm 空气, 再吸入 10 μ L 左右精子悬浮液, 再吸入空气, 之后吸入约 100 μ L HTF 培养液, 最后吸入空气, 用麦管封口机热封口。(没有封口机可用金属镊子烧红后夹住麦管尾部封口, 吸入 HTF 培养液目的是防止麦管太轻飘在液氮表面)。
- 3、在泡沫盒中倒入液氮, 液氮液面距离泡沫盒最上缘约 5-10 cm, 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, 建议使用本公司精子冷冻漂浮器。

- 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。
MTG 在精子冻存液内的终浓度为 447 μM , 即 0.04 $\mu\text{L/mL}$ 。

建议稀释步骤:

- 取一支 2 mL 精子冻存液, 加入 16 μL MTG, 反复颠倒混匀, MTG 终浓度为 8 $\mu\text{L/mL}$, 此管为 MTG 浓缩液。 MTG 浓缩液也可以用 PBS 或生理盐水稀释。
- 取 10 μL MTG 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 0.04 $\mu\text{L/mL}$ 。

解冻步骤

- 水浴加热至 37°C, 用镊子将麦管从液氮罐中取出, 迅速移到水浴中解冻 15 min。(冷冻后小鼠精子对环境适应性较弱, 请动作迅速, 小心操作)。
- 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 1 mL 注射器连接, 将精子悬液打入已经预热平衡好的 200 μL HTF 培养液滴中, 置于 CO₂ 培养箱获能 50 min。

试剂成分

组分	mmol/L
棉子糖	302.77
脱脂奶粉	30 (g/L)
L-谷氨酰胺	99.9
Gentamicin sulfate salt*	0.025 (g/L)

备注: 赠送附属试剂-硫代甘油 (100 μL /支)

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

*本产品用热稳定的庆大霉素替代双抗 (青霉素-链霉素溶液), 延长培养液有效期。