

葡萄糖对 ICR 小鼠胚胎体外发育的影响

丁芳¹, 周红林^{2,*}, 刘洋², 马兰², 苏莹², 杜玲²

(1. 三峡大学 仁和医院妇产科, 湖北 宜昌 443001; 2. 昆明医学院 第二附属医院妇科, 云南 昆明 650101)

摘要: 研究葡萄糖在小鼠早期胚胎体外发育中的作用。实验 1 将 6—8 周龄的 ICR 雌鼠超数排卵后与公鼠交配, 收集 1-细胞放入含 0 (对照组)、0.5、1、3、5、10 mmol/L 葡萄糖的 CZB 中培养; 实验 2 将从超排的 ICR 雌鼠输卵管内收集的 1-细胞放入无糖 CZB 中培养, 分别于 1 细胞、2 细胞、4 细胞、桑椹胚阶段移入含 3.0 mmol/L 葡萄糖 (最适浓度) 的 CZB 中, 培养 24 h 后又移回到无糖 CZB 中 (桑椹胚阶段除外) 继续培养以及整个胚胎培养过程均在含糖 CZB 中, 对照组胚胎培养全程均在无糖 CZB 中。每组胚胎于 37℃、5 %CO₂ 培养箱中培养 120 h, 每 24 h 在倒置显微镜下观察胚胎发育情况, 分别计算 2-细胞率、4-细胞率、桑椹胚率、囊胚率和孵化率, 并进行囊胚细胞计数。结果显示, 小鼠胚胎在含糖 CZB 中与在无糖 CZB 中 4-细胞发育率无差异; 含糖 CZB 中囊胚率显著高于对照组; 3.0 mmol/L 浓度组囊胚细胞数显著高于其余组; 2-细胞至 4-细胞、4-细胞至桑椹胚前添加葡萄糖囊胚率显著高于对照组, 1-细胞至 2-细胞、桑椹胚及其以后阶段添加葡萄糖囊胚率与对照组无差异。实验证实, 在 ICR 小鼠胚胎体外培养中加入葡萄糖不会导致 2-细胞阻滞; 葡萄糖浓度增至 10 mmol/L 对 ICR 小鼠胚胎无毒性作用; ICR 小鼠胚胎体外培养的最适葡萄糖浓度为 3.0 mmol/L; 2-细胞至 4-细胞、4-细胞至桑椹胚前添加葡萄糖是必要的。

关键词: 葡萄糖; 小鼠; 2-细胞阻滞; 胚胎; 体外发育

中图分类号: Q813.7 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853(2007)05-0501-06

Effects of Glucose on Development of ICR Mouse Embryos *in vitro*

DING Fang¹, ZHOU Hong-lin^{2,*}, LIU Yang², MA Lan², SU Ying², DU Ling²

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, Renhe Hospital of Three Gorges University, Yichang, Hubei 443001, China;

2. Department of Gynecology, 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming, Yunnan 650101, China)

Abstract: To study the effects of glucose on the development of ICR mouse embryos *in vitro*. Experiment 1: ICR female mice (6—8 weeks of age) were super-ovulated with i.p. injections of PMSG and hCG, and mated overnight with males. One-cell embryos were collected at 22—26 hrs after hCG and cultured in CZB supplemented with 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 or 10mmol/L glucose respectively. Experiment 2: One-cell embryos were collected from the oviducts of ICR female mice, super-ovulated and cultured in glucose-free CZB. The embryos, respectively at one-cell, two-cell, four-cell or morula stage, were removed from glucose-free CZB medium and placed in CZB medium supplemented with 3.0mmol/L glucose (optimal concentration) and removed to glucose-free CZB 24h later (except the morula stage embryo). The embryos in another group were cultured in CZB supplemented with 3.0mmol/L glucose during the entire culture time. The embryos in the control group were continuously cultured in glucose-free CZB. Embryos were cultured for 120h at 37℃ under 5% CO₂ in sealed culture chambers and observed every 24h under a Nikon inverted microscope. The culture efficiency was evaluated by determining the proportion of embryos reaching the four-cell (48h), blastocyst (96h), or hatched blastocyst (120h) stage. The total cell numbers were counted in the blastocyst and hatched blastocyst embryos. The experiment results were: 1) There were no significant differences in the rates of four-cell embryos between every glucose-containing group and the glucose-free group. 2) The blastocyst rates of glucose-containing groups were significantly higher than that of the control. 3) The total cell numbers in the concentration group containing 3.0mmol/L glucose were significantly higher than one another. 4) Addition of glucose from the two-cell to four-cell stage or from the four-cell to morula stage, significantly increased the blastocyst rates compared with the control. In contrast, addition of glucose from one-cell to two-cell, at morula or after morula, did not increase the blastocyst rates compared with the control. It indicates that addition of glucose to CZB does not result in two-cell block of the embryo development, and

收稿日期: 2007-06-22; 接受日期: 2007-09-04

基金项目: 留学人员科技活动项目择优资助项目

*通讯作者 (Corresponding author), E-mail: zhoxxy36@yahoo.com

第一作者简介: 丁芳 (1975—), 硕士研究生, E-mail: Fangd2004@tom.com。

addition of glucose to CZB in a concentration as high as 10mmol/L does not inhibit the development of ICR mouse one-cell to hatched blastocyst development. The optimal concentration of glucose added in CZB could be 3.0mmol/L in the culture of ICR mouse embryos *in vitro*. Exposure of embryos to glucose, beginning at the two-cell and extending to the four-cell stage or beginning at the four-cell and extending to the morula stage, is necessary for the development of ICR mouse embryos *in vitro*.

Key words: Glucose; Mouse; Two-cell block; Embryo; Development *in vitro*

自从 Whitten 第一次体外成功培养小鼠胚胎以来,人们一直在努力探讨早期胚胎发育的机制,伴随而来的是优化胚胎培养基的研究,其中能量底物的改进是重要的一环,葡萄糖是受广泛关注能量物质之一(Leese&Barton,1984; Schini& Bavister,1988; Quinn et al,1995)。

Iyengar et al (1983)的研究报道,胚胎在 8 细胞期之前,丙酮酸和乳酸为主要的能量来源,而葡萄糖为非必需,到桑椹胚后期,葡萄糖才为主要的能量物质。后来,Chatot et al (1989)研究表明,在小鼠胚胎发育的最初 48 h 葡萄糖抑制胚胎的发育,其认为葡萄糖的存在不利于克服 2-细胞阻滞。最近有人在 CZB 培养基中添加葡萄糖,对昆明小鼠早期胚胎进行体外培养,发现葡萄糖不仅不会导致 2-细胞阻滞,而且从培养的一开始就应该加入(Xiao et al, 2003)。目前,葡萄糖是否抑制植入前胚胎的体外发育及究竟胚胎发育的哪一阶段需要葡萄糖报道不一。

尽管几乎所有物种雌性生殖道上都能检测到葡萄糖的存在,但葡萄糖基础浓度有种属依赖性,在 0.5 mmol/L 和 3.0 mmol/L 之间波动,由于胚胎体外培养与体内发育存在较大差异,在小鼠胚胎体外培养中,是否存在葡萄糖浓度依赖性有待进一步的研究。

本研究以常用的实验品系 ICR 小鼠为实验材料,通过在 CZB 培养基中添加不同浓度葡萄糖及胚胎发育的不同阶段添加葡萄糖对小鼠胚胎进行体外培养,为进一步研究胚胎发育机制、优化胚胎体外培养体系提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

ICR 小鼠购自昆明医学院动物科,葡萄糖由美国 Sigma 公司提供,白色粉末;配制 CZB 培养基和 CZB-HEPES 液的各试剂均购自美国 Sigma 公司,矿物油购自美国 Sigma 公司。孕马血清促性腺激素

(PMSG)购自宁波第二激素厂,绒毛膜促性腺激素(HCG)购自瑞士雪兰诺大药厂。

1.2 培养液

培养用的 CZB 培养基参照 Chatot et al (1989)配方,CZB-HEPES 在 CZB 配方的基础上加入 HEPES-Na20mmol/L,NaHCO₃ 降至 5mmol/L,BSA 用 PVA 代替(Kimura & Yanagimachi,1995),上述培养液用 0.22 μm 孔径的微孔膜过滤后放置 4℃冰箱储存备用。CZB 培养基与葡萄糖以不同比例混合,分别配制成含 0.5、1.0、3.0、5.0 和 10mmol/L 葡萄糖的 CZB 培养液。

1.3 动物的超数排卵

选取 6—8 周的 ICR 雌鼠和 8—10 周的 ICR 雄鼠,实验前雌鼠先腹腔注射 10IU PMSG,间隔 46—48h 腹腔注射 10IU hCG,随后与雄鼠按 1:1 比例合笼交配,次晨检查阴栓,有阴栓者提示已交配。

1.4 胚胎的收集

在注射 hCG 后 22—26h 左右,将有阴栓的雌鼠用颈椎脱臼法处死,取 1-细胞胚胎定为第一天,75%酒精消毒腹部后,打开腹腔,剪下输卵管迅速将其置于预温的 CZB-HEPES 液中,于解剖镜下用连有 1mL 注射器的 5 号针头将输卵管壶腹部明显膨大处穿破,使胚胎流出,如果受精卵还被颗粒细胞包裹,用移液枪将胚胎移入透明质酸酶(300 IU/mL)中,消化去除颗粒细胞,经 CZB-HEPES 洗涤 2 次,在 Nikon40 倒置显微镜下观察胚胎形态,挑选有第二极体或双原核的形态正常的受精卵用于体外培养。

1.5 胚胎培养

本实验采用微滴法培养,每滴中按 10 个胚胎/20 μL 培养液的密度放置鼠胚。培养皿于培养前一天准备,并放入 37℃、5%CO₂、饱和湿度的二氧化碳培养箱中平衡一晚,从每只雌鼠中获得的胚胎均被平均分配到各组中,这样每个培养滴中含有多个雌鼠的胚胎。胚胎在 37℃、5%CO₂ 和饱和湿度的二氧化碳培养箱中持续培养 120h。

1.6 实验设计

1.6.1 不同浓度葡萄糖对小鼠胚胎体外发育的影响实验 将体内取出的 1-细胞胚胎按随机分组的原则分别放入以下各培养液中进行体外培养, 实验共分 6 组。1 组: 对照组, 胚胎在不含葡萄糖的 CZB 培养液中培养; 2、3、4、5、6 组: 实验组, 胚胎分别在含 0.5、1.0、3.0、5.0 和 10mmol/L 葡萄糖的 CZB 培养液中培养。连续培养 120 h, 每 24 h 在倒置显微镜下观察胚胎发育情况, 分别计算 2-细胞率、4-细胞率、桑椹胚率、囊胚率和孵化率, 并进行囊胚细胞计数。

1.6.2 葡萄糖对小鼠胚胎体外发育各阶段的作用实验 (图 1) 从上述实验的数据统计结果我们得出葡萄糖的最佳浓度为 3.0 mmol/L, 该实验我们选择该浓度进行分阶段培养。将体内取出的 1-细胞胚胎按随机分组的原则分别放入以下各培养液中进行体外培养, 实验共分 6 组。1 组为对照组, 胚胎培养全程均在不含葡萄糖的 CZB 培养液中; 2、3、4 和 5 组为实验组, 分别在 1 细胞、2 细胞、4 细胞和桑椹胚阶段移入含 3.0 mmol/L 葡萄糖的 CZB 培养液中, 培养 24 h 后又移回到无糖 CZB 中 (桑椹胚阶段除外) 继续培养至 120h; 实验组 6 组的胚胎培养全程均在 3.0 mmol/L 葡萄糖的 CZB 培养液中。每组胚胎在体外均移动两次, 从有糖培养滴移入无糖

培养滴时先在无糖 CZB 培养滴中漂洗 3 遍以免将糖带入无糖培养滴中。同样观察 2-细胞率、4-细胞率、桑椹胚率、囊胚率及孵化率。

1.7 胚胎细胞染色计数

将获得的囊胚用 Hoechst33342 (10 μ g/mL) 染色 10 min, 放置于干净的载玻片上, 覆以盖玻片并轻轻挤压, 使细胞平铺, 在荧光显微镜下拍照, 计数。

1.8 统计学处理

采用 SPSS11.5 统计学软件包, 对 2-细胞率、4-细胞率、桑椹胚率、囊胚率和孵化率进行卡方检验并进行各组间率的两两比较; 囊胚细胞数进行单因素方差分析及最小显著差法 (LSD) 进行均数的两两比较, $P<0.05$, 差异有显著性。

2 结 果

2.1 不同浓度葡萄糖对胚胎发育的影响

由表 1 知, 与无糖对照组比较, 各浓度葡萄糖组 2-细胞率、4-细胞率和桑椹胚率无明显差异 ($P>0.05$), 各浓度葡萄糖组囊胚率、孵化率及囊胚细胞数明显增加 ($P<0.05$); 各浓度葡萄糖组之间比较, 囊胚率及孵化率无明显差异 ($P>0.05$), 其中 3.0 mmol/L 浓度组囊胚细胞数较其余组显著增加 ($P<0.05$)。

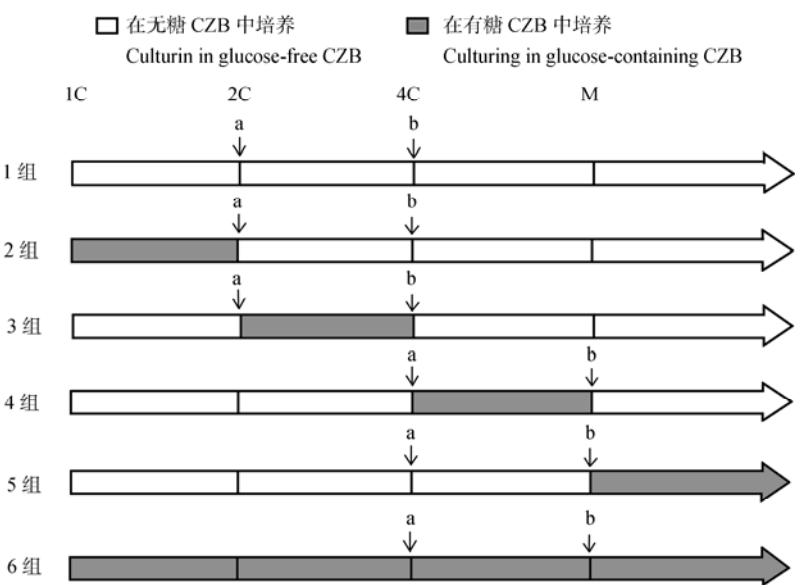


图 1 不同阶段加入葡萄糖对小鼠胚胎体外培养

Fig. 1 Culturing mouse embryos with addition of glucose to CZB at different developmental stages *in vitro*

1C:1 细胞 (1-Cell); 2C:2 细胞 (2-Cell); 4C:4 细胞 (4-Cell); M:桑椹胚 (Morula); a:第一次移胚胎 (the first time to transfer the embryo); b:第二次移胚胎 (the second time to transfer the embryo)。

2.2 不同阶段加入葡萄糖对胚胎发育的影响

由表 2 知, 与无糖对照组比较, 2-细胞、4-细胞及培养全程加糖囊胚率显著提高($P<0.05$), 4-细胞阶段加糖孵化率显著提高($P<0.05$), 1-细胞及桑椹胚阶段加糖囊胚率、孵化率与对照组差异无显著性($P>0.05$); 各实验组间比较, 2-细胞阶段、4-细胞阶段及培养全程加糖囊胚率高于 1-细胞阶段加糖、桑椹胚阶段加糖($P<0.05$), 4-细胞阶段加糖孵化率高于 1-细胞、桑椹胚阶段加糖($P<0.05$)。

3 讨 论

3.1 葡萄糖与小鼠胚胎体外发育的 2-细胞阻滞

早期, 人们对葡萄糖就作了大量的研究, Brinster (1963; 1965a) 分别用含乳酸及丙酮酸作为能量底物的培养基成功地将 2-细胞小鼠胚胎培

养至囊胚阶段。他认为, 丙酮酸, 而不是葡萄糖, 是小鼠胚胎的主要能量来源物质。随后, Chatot et al (1989)的实验报道了类似的现象, 在小鼠胚胎体外发育的最初 48h, 添加葡萄糖不利于克服 2-细胞阻滞。当时的研究认为, 在最初的 2—3 次分裂期间, 葡萄糖抑制胚胎的体外发育, 胚胎主要利用丙酮酸及乳酸作为能量来源。但后来的研究却与之矛盾, McGinnis & Youngs (1992)证实, 绵羊受精卵的卵裂受到葡萄糖的激活, 葡萄糖对绵羊植入前胚胎体外发育没有抑制作用, Swain et al (2002)报道, 葡萄糖对猪的植入前胚胎的体外发育亦没有抑制作用。

为进一步探讨葡萄糖对小鼠早期胚胎发育的作用, 本实验在无糖 CZB 培养基中添加葡萄糖对 ICR 小鼠 1-细胞进行体外培养, 结果发现: 小鼠胚胎在加糖 CZB 中与在无糖 CZB 中培养比较, 4-细

表 1 不同浓度葡萄糖对 1-细胞小鼠胚胎体外发育的影响
Tab.1 Effect of different concentrations of glucose on the development of one-cell mouse embryos *in vitro*

组别	葡萄糖浓度	1- 细胞 胚	胚胎数及百分率					囊胚细胞数
Groups	Glucose	胎数	Number and rates of developmental embryos (%)					Number of cells
	concentrations	Number of	2-细胞	4-细胞	桑椹胚	囊胚	孵化胚	in each blastocyst
	(mmol/L)	1-cell	2-cell	4-cell	Morula	Blastocyst	Hatched blastocyst	(mean±SD)
1	0 (对照)	117	100(85.4)	93(79.5)	73(62.4)	18(15.4) ^a	0(0) ^a	34.6 ± 8.5 ^a
2	0.5	116	94(81.0)	90(77.6)	77(66.4)	63(54.3) ^b	10(8.6) ^b	49.6 ± 15.6 ^b
3	1.0	118	96(81.4)	85(72.0)	72(61.0)	64(54.2) ^b	13(11.0) ^b	52.9 ± 17.2 ^b
4	3.0	118	94(79.7)	82(69.5)	71(60.2)	65(55.1) ^b	13(11.0) ^b	69.8 ± 27.3 ^c
5	5.0	117	95(81.2)	82(70.1)	75(64.1)	66(56.4) ^b	11(9.4) ^b	49.6 ± 15.8 ^b
6	10	117	95(81.2)	83(70.9)	73(62.4)	66(56.4) ^b	14(12.0) ^b	51.2 ± 16.9 ^b

同一列上标字母不同表示有显著性差异, $P<0.05$ 。
Values in the same column with different lowercase letters indicating significant difference, $P<0.05$.

表 2 葡萄糖对不同阶段小鼠胚胎体外发育的影响
Tab.2 Effect of glucose on mouse embryos at different developmental stages *in vitro*

组别 groups	加糖阶段 Stages of addition of glucose	1-细胞胚 胎数 Number of 1-cell	胚胎数及百分率				
			Number and rates of developmental embryos (%)				
			2-细胞 2-cell	4-细胞 4-cell	桑椹胚 Morula	囊胚 Blastocyst	孵化胚 Hatched blastocyst
1	全程无糖 (对照)	119	104(87.4)	79(66.4)	56(47.1)	0(0) ^a	0(0) ^a
2	1-细胞	120	108(90.0)	82(68.3)	61(50.8)	10(8.3) ^a	2(1.7) ^a
3	2-细胞	122	108(88.5)	86(70.5)	63(51.6)	34(27.9) ^b	7(5.7) ^{ab}
4	4-细胞	124	110(88.7)	88(71.0)	75(60.5)	53(42.7) ^b	16(12.9) ^b
5	桑椹胚	122	114(93.4)	84(68.9)	60(49.2)	9(7.4) ^a	1(0.8) ^a
6	全程加糖	119	112(94.1)	85(71.4)	70(58.8)	49(41.2) ^b	8(6.7) ^{ab}

同一列上标字母不同表示有显著性差异, $P<0.05$ 。
Values in the same column with different lowercase letters indicating significant difference, $P<0.05$.

胞发育率无差异,也就是说,在 1-细胞体外发育的最初 48 h,添加葡萄糖并不抑制胚胎的发育,葡萄糖不会导致小鼠胚胎的 2-细胞阻滞,这一研究结果与 Chatot et al (1989)的结果明显不同。造成这一差异的主要原因有: 1) Chatot et al (1989)的实验组中含糖组胚胎数为 100 例,无糖组胚胎数为 949 例,例数相差悬殊,可能分配胚胎不随机或含糖组与无糖组不在同一批次实验中; 2) 本实验所用 ICR 小鼠与 Chatot et al (1989)所研究的鼠在遗传特异性方面存在较大差异。哺乳动物早期胚胎体外发育阻滞的确切发生机理目前尚未完全清楚,但已有研究结果显示,遗传因素,特别是母体基因型有着支配性作用。

3.2 不同浓度葡萄糖对小鼠胚胎体外发育的影响

葡萄糖对小鼠胚胎体外发育的影响是否存在浓度依赖性,国外研究者进行了相关研究。其中有人发现,当葡萄糖高达 5.0 mmol/L 时,抑制仓鼠 1-细胞和 2-细胞胚胎至囊胚阶段的发育,降低囊胚细胞数量(Ludwig et al, 2001),而另外的研究表明,在 KSOM 培养基,葡萄糖浓度增至 5.56 mmol/L 不抑制远系杂交 CF1 小鼠合子到孵化胚的发育(Summers et al, 2000)。我们的实验结果显示,与无糖对照组相比,各浓度葡萄糖组都能显著提高 ICR 小鼠胚胎的囊胚率、孵化率及囊胚细胞数;葡萄糖浓度增至 10 mmol/L 不抑制 ICR 小鼠受精卵到孵化胚的发育。此外,我们还发现,在本研究的浓度范围内,3.0 mmol/L 葡萄糖组不仅能提高鼠胚的囊胚率、孵化率,而且囊胚细胞数显著高于其余组(对照组及各实验组)。囊胚细胞数量是真实反映胚胎质量的一项客观指标,实践证明,体外培养的胚胎移植妊娠率和胎儿出生率与囊胚细胞卵裂球的数量密切相关,由此推论,3.0 mmol/L 葡萄糖可能是 ICR 小鼠胚胎体外发育的最佳浓度。Gardner & Leese (1990)报道,小鼠输卵管液中葡萄糖浓度为 3.40 mmol/L。本实验的最佳浓度与该浓度接近,因此我们推断,小鼠体外发育的最适浓度可能与体内输卵管的浓度接近。

3.3 不同阶段添加葡萄糖对小鼠胚胎体外发育的影响

为进一步探讨是否在胚胎发育的某个特殊阶段需要葡萄糖,我们在 CZB 培养基中分阶段添加葡萄糖对小鼠胚胎进行体外培养。其结果显示: 2-细胞、4-细胞及培养全程加糖囊胚率显著高于无糖对照组,1-细胞、桑椹胚阶段加糖囊胚率未见增加。这个结果提示胚胎体外发育中对葡萄糖的需求局限于 2 细胞至 4 细胞或者 4-细胞至桑椹胚之前,暴露葡萄糖太早(2-细胞之前),或者太迟(桑椹胚及以后)均不能提高胚胎的囊胚率。因此我们认为,小鼠胚胎发育在 2 细胞至 4 细胞或者 4-细胞至桑椹胚前对葡萄糖有依赖性,此时添加葡萄糖是必要的。上述结果可能与以下因素有关,1-细胞阶段,胚胎代谢和蛋白质合成完全受母源性信息的调控,葡萄糖利用受限,胚胎发育主要利用丙酮酸和乳酸的代谢供能; 2-细胞阶段,胚胎基因组激活,胎源性蛋白质合成大大增加,胚胎发育也由母源性调控转移到合子型调控,葡萄糖能量代谢途径开放,胚胎开始动用葡萄糖代谢供能,该阶段添加葡萄糖囊胚率增加(27.9%); 4-细胞阶段以后,胚胎卵裂速度加快,能量需求急剧上升,葡萄糖代谢迅速增加,此时添加葡萄糖囊胚率明显提高(达到 42.7%)。另一方面,从本实验数据来看,1-细胞至桑椹胚之前无糖部分胚胎也能发育到桑椹胚(47.1%),桑椹胚阶段加入葡萄糖胚胎仍不能继续发育,囊胚率仅为 7.4%。我们考虑可能的原因有,其一,在无糖的情况下,胚胎主要利用丙酮酸及乳酸代谢供能,但这种能量供给是有限的,只能支持胚胎发育到桑椹胚,不能支持胚胎后期的发育;其二,桑椹胚阶段加糖仍不能补救,可能由于桑椹胚期葡萄糖代谢途径受限,也可能由于囊胚的形成必须通过提前代谢葡萄糖储备某些物质,其具体的机制有待进一步研究。

3.4 胚胎体外培养方法的探讨

实验二结果同时表明,培养一开始加入葡萄糖与 2 细胞至 4 细胞或 4-细胞至桑椹胚前添加葡萄糖囊胚率无明显差异,但培养一开始加入葡萄糖能避免体外移动胚胎,减少了体外操作,移动胚胎的操作可能会对胚胎发育造成影响,所以我们认为从培养的一开始就加入葡萄糖可能是一种更好的培养方法。

参考文献:

- Brinster RL. 1963. A method for *in vitro* cultivation of mouse ova from two-cell to blastocyst [J]. *Expl Cell Res*, **32**:205-208.
- Brinster RL. 1965. Studies on the development of mouse embryos *in vitro*. IV. Interactions of energy sources [J]. *J Reprod Fertil*, **10**:227-240.
- Chatot CL, Ziomek CA, Bavister BD, Lewis JL, Torres I. 1989. An improved culture medium supports development of random-bred 1-cell mouse embryos *in vitro* [J]. *J Reprod Fertil*, **86**:679-688.
- Gardner DK, Leese HJ. 1990. Concentrations of nutrients in mouse oviduct fluid and their effects on embryo development and metabolism *in vitro* [J]. *J Reprod Fertil*, **88**:361-368.
- Iyengar MR, Iyengar CW, Chen HY, Brinster RL, Bornslaeger E, Schultz RM. 1983. Expression of creatine kinase enzyme during oogenesis and embryo genesis in mouse [J]. *Dev Biol*, **96**(1):263-268.
- Kimura Y, Yanagimachi R. 1995. Mouse oocytes injected with testicular spermatozoa or round spermatids can develop into normal offspring [J]. *Development*, **121**:2397-2405.
- Leese HJ, Barton AM. 1984. Pyruvate and glucose uptake by mouse ova and preimplantation embryos [J]. *J Reprod Fertil*, **72**:9-13.
- Ludwig TE, Lane M, Bavister BD. 2001. Differential effect of hexoses on hamster embryo development in culture [J]. *Biol Reprod*, **64**:1366-1374.
- McGinnis LK, Youngs CR. 1992. *In vitro* development of ovine embryos in CZB medium [J]. *Theriogenology*, **37**:559-569.
- Quinn P, Moinipaneh R, Steinberg JM, Weathersbee P. 1995. Successful human *in vitro* fertilization using a modified human tubal fluid medium lacking glucose and phosphate ions [J]. *Fertil Steril*, **63**:922-924.
- Schini SA, Bavister BD. 1988. Two-cell block to development of cultured hamster embryos is caused by phosphate and glucose [J]. *Biol Reprod*, **39**:1183-1192.
- Summers MC, McGinnis LK, Lawitts JA, Raffin M, Biggers JD. 2000. IVF of mouse ova in a simplex optimized medium supplemented with amino acids [J]. *Hum Reprod*, **15**:1791-1801.
- Swain JE, Bormann CL, Clark SG, Walters EM, Wheeler MB, Krisher RL. 2002. Use of energy substrates by various stage preimplantation pig embryo produced *in vivo* and *in vitro* [J]. *Reproduction*, **123**:253-260.
- Xiao WW, Zou YF, Liu DH, Fu XQ, Zhang SM. 2003. *In vitro* culture of early mouse embryo [J]. *Huazhong Univ Sci Tech (Health Sci)*, **32**(6):593-597. [肖文伍, 邹亚芬, 刘登华, 傅新巧, 张苏明. 2003. 小鼠早期胚胎的体外培养研究. 华中科技大学学报(医学版), **32**(6):593-597.]

本刊编委杨光教授简介



杨 光研究员

杨 光(1968年9月),男,1996年在南京师范大学生命科学学院获得博士学位后留校工作至今。1999年破格晋升为副教授,2003年破格晋升教授。现为南京师范大学生命科学学院特聘教授、博士生导师、动物学国家重点学科首席学科带头人、江苏省生物多样性与生物技术重点实验室主任。主要从事动物遗传资源的保护和管理、分子进化生物学与分子生态学、濒危动物生态学与保护生物学等研究。在国内最早地将分子标记系统地应用于鲸豚类的生物学和保护研究,在国际上首次通过包括所有淡水豚类的系统发生分析为白鱀豚科的分类地位提供了分子证据,并通过多种标记等对白鱀豚、江豚等的保护遗传学开展系统研究。

入选教育部“新世纪优秀人才支持计划”、江苏省“青蓝工程”新世纪学术带头人,并得教育部霍英东教育基金会高等院校青年教师奖、中国动物学会首届青年科技奖、教育部科技进步三等奖等奖励。先后主持国家级、部省级、横向和国际交流与合作项目等20多项,并担任国家“211”工程“十一·五”期间南京师范大学重点学科建设项目“生物多样性与功能基因研究”负责人。已在 *Conservation Biology*、*Molecular Phylogenetics and Evolution*、*Immunogenetics*、*Biological Journal of the Linnean Society* 和 *Journal of Heredity* 等刊物发表论文约80篇,其中SCI的17篇。主持的动物学课程被评为江苏省一类优秀课程和江苏省精品课程。兼任中国动物学会理事,江苏省动物学会理事长,中国动物学会生物进化理论专业委员会委员,《动物学报》《兽类学报》《动物学杂志》和《动物学研究》编委等多个学术职务。多次赴日本、美国、英国和香港等国家或地区访问研究或参加国际学术会议。