



# 小鼠精子活性和畸形检测 实验报告



北京郎克生物科技有限公司

2025年1月17日



一、精子活性检测

1.1 实验内容

物种：BALB/cA-nu 小鼠

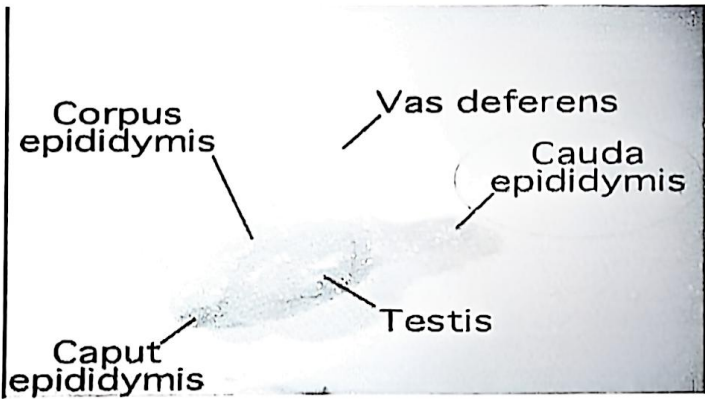
目的：对提供的 10 只雄性小鼠通过使用相关仪器和试剂对其进行精液质量检测，并按照要求对小鼠睾丸进行取材保存，提交原始数据。

1.2 实验器材和试剂

| 仪器/试剂名称    | 仪器厂家  | 仪器/试剂型号     |
|------------|-------|-------------|
| 计算机辅助精液分析仪 | 赛司    | SAS-AM-II   |
| 恒温金属浴      | 艾本德   | ThermoStatC |
| HTF获能液     | Sigma | MR-070-D    |

1.3 实验步骤

- 1) 1ml HTF 获能液分装至 1.5ml 离心管，放至 37℃ 金属浴预热 10min。
- 2) 脱颈处死雄鼠，分离出两侧附睾尾 (caudaepididymis) (图 1)。
- 3) 将附睾尾放入 1ml HTF 中剪碎，37℃ 释放 20min。
- 4) 取 10 μl 靠近液面的 HTF 获能液放入到仪器凹槽上，进行镜下计算机辅助精液分析仪检测，采集相关数据。



1.4 实验结果

| 编号  | 检测总数   | 杂质个数 | 精子数    | 密度    | 曲线速度            | 直线速度            | 路径速度            | 大小              | 周长            | 侧摆幅值          | 角度    | 鞭打频率  | 直线活率  | 直线密度  | 直线个数  |
|-----|--------|------|--------|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|     | 个      | 个    | 个      | 百万/毫升 | $\mu\text{m/s}$ | $\mu\text{m/s}$ | $\mu\text{m/s}$ | $\mu\text{m}^2$ | $\mu\text{m}$ | $\mu\text{m}$ | 度     | 次     | %     | 百万/毫升 | 个     |
| 203 | 51.62  | 0.00 | 31.62  | 16.01 | 201.10          | 61.15           | 89.14           | 39.98           | 23.79         | 1.95          | 17.92 | 44.57 | 21.92 | 3.42  | 6.77  |
| 204 | 76.57  | 0.00 | 76.57  | 38.79 | 150.24          | 45.58           | 66.51           | 39.37           | 23.64         | 1.96          | 16.90 | 33.26 | 21.45 | 8.32  | 16.43 |
| 205 | 60.75  | 0.00 | 60.75  | 30.75 | 143.19          | 42.01           | 62.25           | 40.64           | 24.16         | 1.92          | 17.08 | 31.13 | 13.73 | 5.89  | 11.63 |
| 206 | 93.00  | 0.00 | 93.00  | 47.10 | 128.49          | 37.05           | 55.34           | 39.20           | 23.63         | 1.91          | 15.74 | 27.67 | 19.82 | 9.03  | 17.83 |
| 207 | 81.43  | 0.00 | 81.43  | 41.24 | 175.03          | 48.02           | 73.42           | 39.92           | 23.62         | 1.86          | 18.20 | 36.71 | 18.52 | 7.60  | 15.00 |
| 208 | 172.25 | 0.00 | 172.25 | 87.23 | 157.98          | 43.07           | 66.05           | 40.60           | 24.60         | 1.85          | 19.10 | 33.02 | 19.59 | 17.35 | 34.25 |
| 209 | 62.50  | 0.00 | 62.50  | 31.65 | 180.42          | 56.71           | 81.45           | 38.34           | 23.04         | 2.00          | 16.10 | 40.72 | 24.01 | 7.85  | 15.50 |
| 210 | 109.60 | 0.00 | 109.60 | 55.50 | 176.02          | 49.79           | 75.03           | 39.18           | 23.70         | 1.88          | 17.93 | 37.52 | 20.28 | 11.34 | 22.40 |
| 211 | 104.80 | 0.00 | 104.80 | 53.07 | 192.29          | 56.89           | 83.96           | 39.36           | 23.63         | 1.93          | 19.24 | 41.58 | 20.50 | 11.04 | 21.80 |
| 272 | 127.80 | 0.00 | 127.80 | 64.72 | 207.92          | 62.62           | 91.68           | 38.36           | 23.78         | 1.95          | 18.42 | 45.84 | 22.76 | 14.65 | 29.00 |
| 平均值 | 92.03  | 0.00 | 92.03  | 46.61 | 171.27          | 50.29           | 74.48           | 39.49           | 23.76         | 1.92          | 17.66 | 37.24 | 20.76 | 9.65  | 19.06 |

| 编号  | 直线性   | 前向性   | 摆动性   | 检测时间 | 环状运动个数 | 快速运动个数 | 缓慢运动个数 | 原地运动个数 | 不动个数  | 环状运动比例 | 快速运动比例 | 缓慢运动比例 | 原地运动比例 | 不动比例  |
|-----|-------|-------|-------|------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|
|     | %     | %     | %     | 秒    | 个      | 个      | 个      | 个      | 个     | %      | %      | %      | %      | %     |
| 203 | 30.10 | 68.15 | 44.08 | 0.40 | 15.54  | 6.69   | 0.08   | 3.23   | 6.08  | 49.46  | 21.71  | 0.21   | 9.94   | 18.68 |
| 204 | 30.42 | 68.43 | 44.33 | 0.39 | 32.14  | 16.14  | 0.29   | 8.71   | 19.29 | 41.40  | 21.02  | 0.43   | 10.94  | 26.21 |
| 205 | 29.24 | 67.30 | 43.39 | 0.40 | 26.13  | 11.88  | 0.25   | 5.63   | 17.38 | 43.60  | 18.32  | 0.41   | 8.65   | 28.82 |
| 206 | 28.92 | 66.91 | 43.14 | 0.40 | 38.67  | 17.33  | 0.50   | 10.33  | 26.17 | 40.35  | 19.30  | 0.52   | 11.40  | 28.23 |
| 207 | 27.37 | 65.22 | 41.90 | 0.40 | 45.43  | 14.60  | 1.00   | 6.86   | 14.14 | 55.35  | 17.33  | 1.19   | 8.43   | 17.69 |
| 208 | 27.16 | 65.06 | 41.73 | 0.40 | 101.75 | 33.50  | 1.00   | 17.00  | 19.00 | 59.03  | 19.18  | 0.56   | 9.84   | 11.39 |
| 209 | 31.49 | 69.66 | 45.19 | 0.40 | 28.25  | 15.25  | 0.25   | 4.25   | 14.50 | 44.31  | 23.67  | 0.35   | 7.22   | 24.45 |
| 210 | 28.22 | 66.28 | 42.58 | 0.40 | 56.80  | 21.60  | 1.20   | 9.20   | 20.80 | 51.67  | 19.60  | 0.99   | 8.15   | 19.59 |
| 211 | 29.59 | 67.76 | 43.67 | 0.40 | 58.40  | 21.00  | 1.00   | 6.80   | 17.60 | 55.07  | 19.78  | 0.95   | 6.76   | 17.47 |
| 272 | 30.12 | 68.30 | 44.09 | 0.40 | 71.20  | 27.60  | 1.40   | 8.60   | 19.00 | 55.31  | 21.61  | 1.15   | 6.82   | 15.11 |
| 平均值 | 29.26 | 67.31 | 43.41 | 0.40 | 47.43  | 18.45  | 0.70   | 8.06   | 17.39 | 49.58  | 20.15  | 0.66   | 8.84   | 20.76 |

备注：

- 1) 精子活率=100%-不动比例=环状运动比例+快速运动比例+缓慢运动比例+原地运动比例
- 2) 每个样品值= N 个视野/N
- 3) 检测项目单位：

| 项目   | 单位              | 项目   | 单位            | 项目     | 单位 |
|------|-----------------|------|---------------|--------|----|
| 视野   | 个               | 侧摆幅值 | $\mu\text{m}$ | 环状运动个数 | 个  |
| 检测总数 | 个               | 角度   | 度             | 快速运动个数 | 个  |
| 杂质个数 | 个               | 鞭打频率 | 次             | 缓慢运动个数 | 个  |
| 精子数  | 个               | 直线活率 | %             | 原地运动个数 | 个  |
| 密度   | 百万/毫升           | 直线密度 | 百万/毫升         | 不动个数   | 个  |
| 曲线速度 | $\mu\text{m/s}$ | 直线个数 | 个             | 环状运动比例 | %  |
| 直线速度 | $\mu\text{m/s}$ | 直线性  | %             | 快速运动比例 | %  |
| 路径速度 | $\mu\text{m/s}$ | 前向性  | %             | 缓慢运动比例 | %  |
| 大小   | $\mu\text{m}^2$ | 摆动性  | %             | 原地运动比例 | %  |
| 周长   | $\mu\text{m}$   | 检测时间 | 秒             | 不动比例   | %  |

4) 名词定义：

- VCL， 曲线速度 ( $\mu\text{m/s}$ )： 在显微镜下， 精子头在二维平面中沿精子运动轨迹移动在单位时间 内的平均速度。
- VSL， 直线速度 ( $\mu\text{m/s}$ )： 沿路径的起始点与终点之间直线运动所计算出的速度。
- VAP， 平均路径速度 ( $\mu\text{m/s}$ )： 沿平均路径所计算出单位时间的平均速度。
- LIN， 直线性： 曲线路径的直线程度（直线速度 / 曲线速度）。
- WOB， 摆动性： 曲线路径关于平均路径摆动幅度的程度（平均路径速度 / 曲线速度）。
- STR， 前向性： 平均路径的直线程度（直线速度 / 平均路径速度）。

- 平均移动角度：精子沿曲线路径运动时，单位时间的瞬时转向角度的平均绝对值（需注意的是，这并不是测量精子头部指向方向的转弯角度）。
- 大小：精子头部的面积。
- 周长：精子头部的周长。



## 二、精子畸形检测

### 2.1 实验原理

精子畸形受基因控制，具有高度遗传性，许多常染色体及 X、Y 性染色体基因直接或间接地决定精子形态。精子的畸形主要是指形态的异常，已知精子的畸形是决定精子形成的基因发生突变的结果。因此，形态的改变提示有关基因及其蛋白质产物的改变。精子畸形实验可检测环境因子对精子生成、发育的影响，而且对已知的生殖细胞致突变物有高度敏感性，故本实验可用作检测环境因子在体内对生殖细胞的致突变作用。本检测参照 GB15193.7-1994 小鼠精子畸形实验标准。

### 2.2 实验器材和试剂

| 仪器/试剂名称 | 仪器厂家 | 仪器/试剂型号      |
|---------|------|--------------|
| 生物显微镜   | 尼康   | NIKON CI-S   |
| 甲醇      | 通广   | 105099-500ML |
| 伊红染色液   | 碧云天  | C0109        |

全部试剂除注明外均为分析纯，试验用水为蒸馏水。

### 2.3 实验步骤

- 1) 用颈椎脱臼法处死小鼠，取出二侧副睾，放入盛有适量生理盐水(1mL)的小烧杯中或放入盛有 2mL 生理盐水的平皿中。
- 2) 用眼科剪将副睾纵向剪 1~2 刀，静止 3~5min，轻轻摇动。用四层擦镜纸或合成纤维血网袋过滤，吸滤液涂片，每只小鼠涂片 4 张以上。
- 3) 空气干燥后，用甲醇固定 5min 以上，干燥。用 1%~2%伊红染色 1h，用水轻冲，干燥。
- 4) 镜检：在低倍镜下(用绿色滤光片)找到背景清晰精子重叠较少的部位，用高倍镜顺序检查精子形态，计数结构完整精子。精子有头无尾(轮廓不清)、或头部与其他精子或碎片重叠、或明显是人为剪碎者，均不计算，每只动物至少检查 500 个精子。

### 2.4 精子畸形判定

精子畸形主要表现在头部，其次为尾部。畸形类型可分为头部畸形(无钩、香蕉型、胖头、小头、无定形头，双头)，尾部畸形(体弯曲、双尾、短尾)，参考精子畸形图示。

判断双头/双尾畸形时要注意与二条精子的部分重叠相鉴别，判断无定形时要与人为剪碎及折叠相鉴别。

### 2.5 畸形精子检测结果

| 小鼠编号<br>精子形态 | 1#  | 2#  | 3#  | 4#  | 5#  | 6#  | 7#  | 8#  | 9#  | 10# |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 正常           | 333 | 352 | 304 | 324 | 306 | 324 | 397 | 349 | 420 | 335 |
| 无钩           | 57  | 45  | 54  | 39  | 39  | 34  | 67  | 40  | 24  | 52  |
| 香蕉型          | 0   | 2   | 1   | 0   | 2   | 4   | 4   | 1   | 2   | 2   |
| 胖头           | 4   | 2   | 3   | 2   | 3   | 2   | 2   | 2   | 0   | 0   |
| 小头           | 8   | 7   | 8   | 4   | 5   | 2   | 7   | 5   | 2   | 1   |
| 无定形头         | 25  | 41  | 32  | 42  | 25  | 59  | 23  | 37  | 18  | 48  |
| 双头           | 11  | 2   | 9   | 6   | 11  | 4   | 3   | 6   | 2   | 2   |
| 体弯曲          | 97  | 113 | 113 | 133 | 125 | 126 | 64  | 103 | 59  | 109 |
| 双尾           | 1   | 3   | 0   | 1   | 3   | 2   | 2   | 1   | 5   | 4   |
| 短尾           | 1   | 4   | 2   | 3   | 7   | 4   | 2   | 3   | 2   | 4   |
| 合计           | 537 | 571 | 526 | 554 | 526 | 561 | 571 | 547 | 534 | 557 |



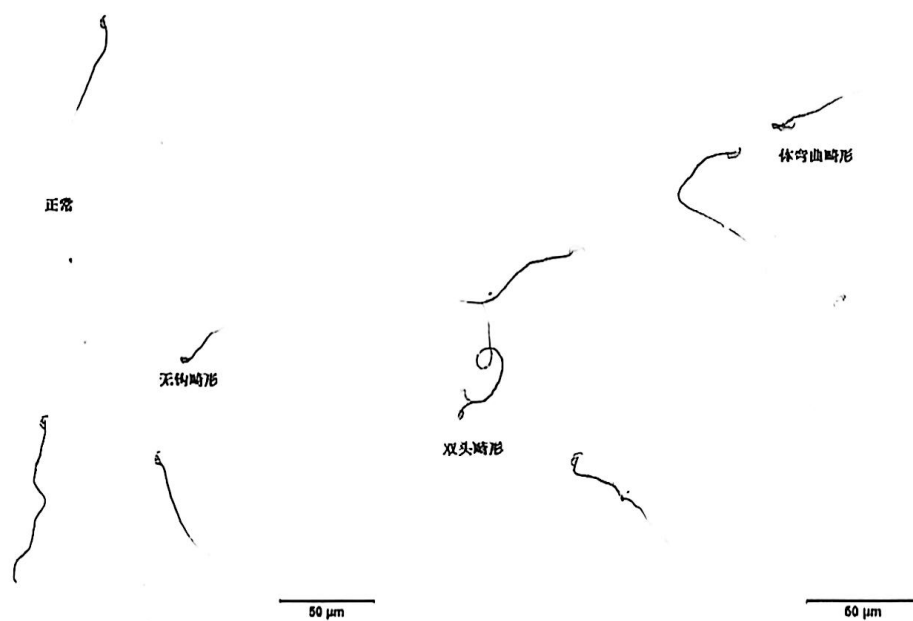
香蕉型精子

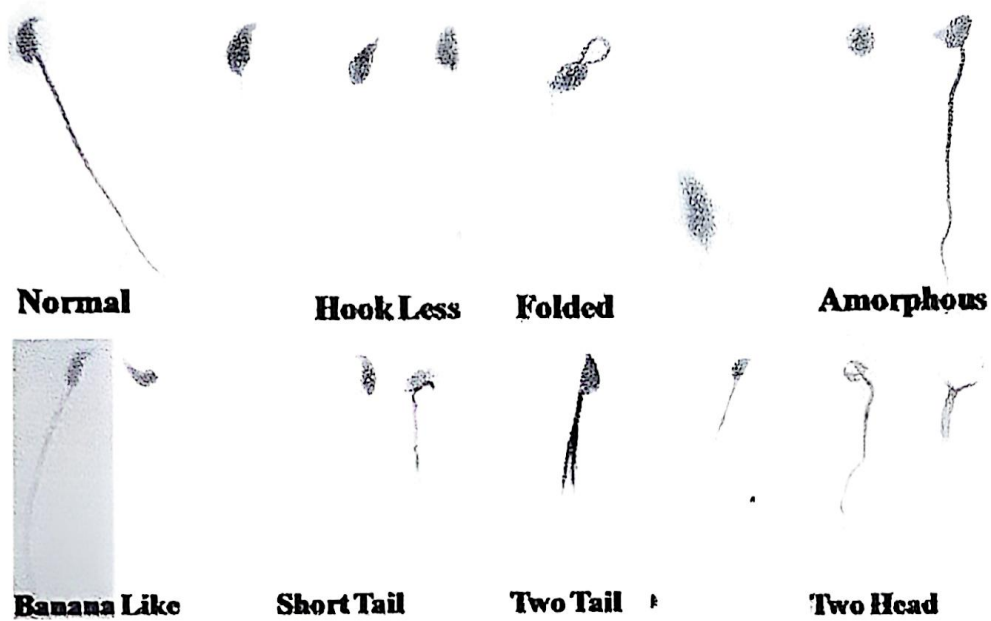


双尾精子



胖头精子





### 三、数据统计

| 参数            | BALB/cA-nu  |
|---------------|-------------|
| 精子活率(直线活率, %) | 20.76±1.77  |
| 精子量(百万)       | 46.61±20.00 |
| 精子密度(百万/ml)   | 46.61±20.00 |
| 精子畸形率(%)      | 37.20±6.64  |

参考: Khan, Shahanshah & Adhikari, Jawahar & Rizvi, Moshahid & Chaudhury, Nabo. (2015). Radioprotective potential of melatonin against  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -ray-induced testicular injury in male C57BL/6 mice. Journal of biomedical science. 22. 61. 10.1186/s12929-015-0156-9.