

## 精子细胞 BWW 培养基储存液

### 简介:

正常精液是一种混合物,在射精时由睾丸和附睾的分泌物及悬浮其中的精子与前列腺、精囊腺和尿道球腺的分泌物混合而成,最终射出的混合物是一种粘稠的液体,精子分析的方法有很多,其中可通过培养进行检测。

精子细胞 BWW 培养基储存液主要由氯化钠、氯化钾、氯化钙、硫酸镁、酚红等组成,不含葡萄糖、丙酮酸钠、BSA 等以及抗生素,是一种旨在用于广谱动物和人体精子细胞获能处理的常用营养液,一般加入葡萄糖、丙酮酸钠、BSA 等以及抗生素就成为精子细胞 BWW 培养基,又称活能培养液,其标准化成分配方依据 Biggers-Whitten-Whittingham(BWW)研究小组在 1971 年发表的成果,适合于各种动物和人体精子细胞处理,该试剂经无菌处理。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称	编号	R22111	Storage
精子细胞 BWW 培养基储存液		500ml	4℃
说明书			一份

### 自备材料:

- 1、无菌离心管
- 2、离心机
- 3、细胞培养箱

### 操作步骤(仅供参考):

- 1、取干净的精液样本室温放置 30~60min,使之充分液化。



## 2、制备精子细胞(仅供参考, 不是必须步骤):

1)上泳法: 取一个无菌的 15ml 锥底离心管, 加入 1ml 液化的精液, 在其上方轻轻加入 Earle 培养液 1.2ml, 45° 倾斜试管, 37°C 孵育 1h, 轻轻竖立试管, 取出最上层的 1ml 液体, 加入 8ml 增补的 Earle 培养液稀释, 500g 离心 5min, 弃上清。加入 Earle 培养液 0.5ml 重新悬浮细胞, 用于精子密度或功能的评估。

2)非连续密度梯度法: 取一个无菌的 15ml 锥底离心管, 加入 3ml 80%的 Percoll, 轻轻加入 3ml 40%的 Percoll 于 80%的 Percoll 液面上, 小心操作, 不要打乱两种液体的界面。轻轻加入 1~2ml 精液于梯度溶液上, 500g 离心 20min, 弃上清, 将管底的精子团重新悬浮于 5~10ml 的 Earle 培养液中, 500g 离心 5min, 弃上清, 加入 1ml Earle 培养液, 重新悬浮。

3、将含有精子细胞的离心管置于 37°C 含 5%CO<sub>2</sub>、95%空气的细胞培养箱中孵育 1h, 如无上述培养箱, 可将离心管密封加盖, 置于 37°C 的普通培养箱内孵育, 在孵育过程中大多数活动的精子从精浆中游离到覆盖上面的培养液内。

4、500g 离心精子悬液 5min, 使精子细胞密度接近于 10×10<sup>6</sup>/ml, 将精子重悬于 0.5-1ml 精子细胞 BWB 培养基(需要葡萄糖、丙酮酸钠、BSA 等以及抗生素称为活能培养液)中, 并在 37°C 含 5%CO<sub>2</sub>、95%空气的细胞培养箱内孵育 18~24h; 如无上述培养箱, 可将离心管密封加盖, 置于 37°C 的普通培养箱内孵育。注意: 在孵育过程中将试管 20° 倾斜。

## 注意事项:

- 1、注意无菌操作, 尽量避免污染。
- 2、如无 Earle 培养液和增补的 Earle 培养液, 可用精子细胞 BWB 培养基代替。
- 3、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 12 个月有效。