

编号: 0207

苏州大学生命科学学院

实验记录本

所在学系 应用生物学

姓名 蒋艳红

学号/工号 20244221045

课题负责人 徐世清

领用日期: 2024年10月12日

实验名称: 显微注射 *GαR* 阻遏质粒
 日期: 2025年7月16日

目的: 待前期成功构建的 *GαR* 阻遏质粒进行显微注射

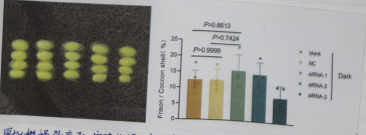
材料: DZ152 催青产卵 6-8h 卵
 4% 甲醛, *GαR* 阻遏质粒, 显微注射仪 (Nanajige, IM30, Japan), 注射液 (ColWu10, SZ12, Jpn), 毛细玻璃管

方法:
 1. 卵准备: 收集产下1h的卵, 随即用无菌水冲洗15min, 用无菌纱布收集卵, 用4%甲醛浸泡5min, 无菌水冲洗1-2mm, 将玻璃管下端湿润状态的卵按照“D”型向右边在载玻片上整齐排列, 卵的有胶(侧集线)朝下, 室温晾干后用指甲固定载玻片上, 在6-8h内完成注射。
 2. 显微注射: 将提前构建并提取好的 *GαR* 与 AS₂ 按 2:1:1 的比例混匀, 冰上备用。
 3. 显微注射: 提前准备好注射液和前端直径 $100nm$ 的显微注射针, 使用微子在玻璃管上用显微注射仪在神经胚上进行显微注射, 注射完后用无氧液密封注射孔, 然后放入无氧培养箱 (RH 85%~9%, 25℃) 直至孵化, 期间每天用4%甲醛消毒。

实验名称: 饲养 *GαR* 阻遏质粒注射后 *Gα* 幼虫
 日期: 2025年7月26日

目的: 饲养至成虫后 *Gα* 幼虫自交产卵, 重卵孵化后 *Gα* 幼虫饲养

方法:
 1. *Gα* 幼虫饲养至成虫, *Gα* 幼虫自交产卵
 2. 卵受精解附培养, 25℃ 下催有孵化出 *Gα*
 3. 将玻璃管下用绿色荧光蛋白检测筛选红色荧光阳性幼虫饲养。



结果
 调查其是否点突变后
 发现 siRNA 注射组与 NO
 和 blank 没有差异
 需要重新设计合成 siRNA

原始数据供于: 实验数据1 - 实验数据 - 统计 - 210812 *GαR* 注射W家蚕

实验名称: siRNA 干扰实验 (预实验)
 日期: 2025年8月12日

目的: WT 在 W 期干涉 *GαR* 调查其对家蚕吐丝的影响实验为后期实验作准备。

材料: siRNA (博奥生物公司设计合成)
 毛细玻璃管, 注射器

方法:
 1. siRNA 制备溶液, 将公司订购的干粉 siRNA 加液列溶解, 每管 200, 加 50μL 液列
 2. 注射: 将发育状态相似的幼虫腹部节间硬壳注射 10μL (浓度为 20μg *GαR*)
 3. 注射完后单独将每一头重饲养, 黑暗处理, 后期每天调查吐丝量。

组别: blank NC siRNA1 siRNA2 siRNA3] Dark (不处理)

实验名称: 调查 siRNA 干扰对家蚕吐丝量影响的实验
 日期: 2025年8月17日

目的: 调查注射 *GαR* - siRNA 浓度的重卵, 吐丝量

blank Dark				NC Dark			
全重量	蚕重量	茧重量	蛹重	全重量	蚕重量	茧重量	蛹重
1.0872	0.1573	0.0187	0.9201	1.1641	0.1816	0.0173	0.9775
1.0944	0.1620	0.0214	0.9235	1.1144	0.1875	0.0177	0.9852
1.1176	0.1619	0.0177	0.9473	1.1223	0.1873	0.0185	0.9877
0.9702	0.1344	0.0155	0.8226	0.9847	0.1463	0.0255	0.8487
0.9731	0.1584	0.0233	0.8117	siRNA-2	Dark		
1.0206	0.1508	0.0134	0.8635	0.9737	0.1512	0.0255	0.9716
siRNA-1	Dark			1.0875	0.1585	0.0225	0.9254
全重量	蚕重量	茧重量	蛹重	全重量	蚕重量	茧重量	蛹重
0.9977	0.1340	0.0310	0.7644	1.0719	0.1547	0.0222	0.7915
0.9487	0.1447	0.0211	0.7576	siRNA-3	Dark		
1.075	0.1605	0.0223	0.7880	0.7973	0.0713	0.0035	0.6407
1.0552	0.1507	0.0178	0.8770	1.022	0.1462	0.0163	0.8508
				1.075	0.1508	0.0170	0.7148
				1.0213	0.1517	0.0084	0.8649