

胚の融解

準備

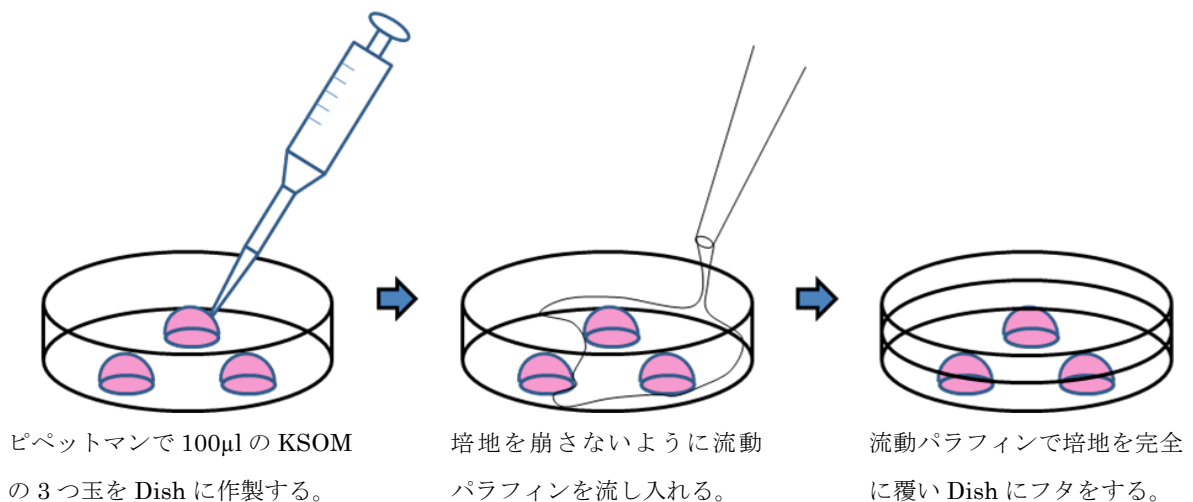
- ・ ピペットマン (GILSON P-1000)
- ・ Dish (IWAKI 35mm Code No.1000-35)
- ・ 流動パラフィン (ナカライテスク Code No. 26137-85)
- ・ KSOM(又は mWM) (弊社販売)
- ・ 0.25M Sucrose (弊社販売)
- ・ CO₂ インキュベータ (37°C、5%CO₂、95%air)

※消耗品等のメーカーは推奨するものであり、他のメーカーでも構いません。

前準備

1. KSOM(又は mWM)のドロップ (3つ玉) の作製する(図 1)。

〈図 1〉



2. ドロップは、インキュベータ内で30分以上静置し、ガス平衡させてから使用する。

3. 0.25M Sucrose 溶液は37°Cに加温しておく。

※CO₂ インキュベータにて加温する場合、0.25M Sucrose 溶液がCO₂と反応してしまいpH値が変わってしまうのでガス平衡はしない(アンプル管を折らずにインキュベータに入れる)。

方法

1. 凍結チューブを液体窒素タンクから取り出し、直ちにフタを外してチューブ内の液体窒素を捨て、室温に 30 秒静置する(図 2-①)。
 2. ピペットマンで、あらかじめ 37°C に加温しておいた 0.25M Sucrose 溶液 0.9ml をチューブ内へ添加し、素早くピペッティングしシャーレに移す(図 2-②)。
- ※注意点：融解した保存液は、細胞毒性が強いため、0.25M Sucrose 溶液をチューブ内へ添加し、完全に保存液が溶けるまで素早くピペッティングする。この操作は出来るだけ速やかに行う。良好な胚の生存性を維持するために極めて重要なポイントである。
3. さらに、0.4ml~0.5ml の 0.25M Sucrose 溶液でチューブ内を共洗いする。
 4. (2)、(3)の内容液より胚を回収し(図 2-③)、あらかじめガス平衡しておいた KSOM(又は mWM) のドロップに移し(図 2-③ →A)、10 分静置する。
 5. KSOM(又は mWM)のドロップで 2 回洗浄する(図 2-④ A→B、B→C)。

〈図 2〉

