

ストローの融解プロトコル

2025 年 7 月 10 日改訂

融解に必要なもの（参考）

- 液体窒素入りデュワー瓶
- 25°Cのウォーターバス
- はさみ（ストローカッター）
- キムワイプ
- プランジャー（同梱）
- タイマー
- ピンセット
- ピペッター
- 35 × 10 mm ペトリディッシュ
- M2 培地 –EmbryoMax® M2 Medium (1X), Liquid, with Phenol Red (Cat#: MR-015-D)

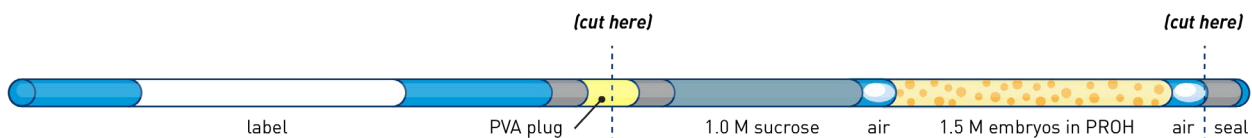
[M2 medium | MR-015-D \(merckmillipore.com\)](https://www.merckmillipore.com/MR-015-D)

融解プロトコル

The Jackson Laboratoryで使用されている胚の凍結と融解の手順は、Renard, J.P.と Babinet, C.によって報告された手順に基づいています。

<参考文献>

[Renard, J.P. and Babinet, C. \(1984\). High survival of mouse embryos after rapid freezing and thawing inside plastic straw with 1-2 propanediol as cryoprotectant. *Journal of Experimental Zoology* 230, 443-448](#)



- ストローを液体窒素保管容器から液体窒素を入れた小さい容器（デュワー瓶など）にできるだけ素早く移動します。
- ストローのラベル付近をピンセットで持ち、液体窒素下より取り出して、空気中で 40 秒間保持します。
- ストローをラベルの位置まで室温のウォーターバス（25°C）に入れます。ストロー内の溶液が完全に溶けるまで（5～10 秒）待ちます。（目安：ストロー内の氷がなくなるまで）
- キムワイプでストローを丁寧に拭きます。
- 胚側でストローをしっかりと保持し、PVA プラグ（黄色がかった色）の真ん中を切断します。
- シール付近でストローを持ち、シール部分を切り落とします。
- プランジャーを用いて綿栓を押し出し、ストローの液体内容物を 35 mm のペトリディッシュにすべて押し出します。＜注意！＞この時、綿栓を押し出した溶液につけないように注意してください。胚が綿栓に付着し、紛失してしまうことがあります。
- 5 分間、静置します。胚はかなり収縮します。
- 5 分後、胚を 1ml の M2 に移動します。胚は急速に水分を吸収し、通常の外観になります。
- 1ml の M2 培地が入ったディッシュで 10 回洗浄します。それぞれのディッシュでは、新しいピペットチップもしくはガラスキャピラリーを使用してください。
- 融解して回収した胚は、培養培地に移動し、できるだけ早急に胚移植作業を実施してください。

参照元：The Jackson Laboratory Official site

<https://www.jax.org/jax-mice-and-services/find-and-order-jax-mice/biospecimens/mouse-embryos>