

バイアルの融解プロトコル

2004年6月23日改訂

融解に必要なもの (参考)

- 融解するサンプルが入った液体窒素入りデュワー瓶
- バイアルラック
- 1ml ピペッター
- ピンセット
- 1ml の DPBS を入れた 35×10mm のファルコンディッシュ
- 培地

融解プロトコル

The Jackson Laboratory Frozen Embryo Repository (ジャクソン研究所の凍結胚貯蔵施設) で凍結および融解に使用される手順は、Whittingham らによって説明された手順に基づいています。[Whittingham, D., S. Leibo, et al. (1972). Survival of mouse embryos frozen to -196°C and -269°C . *Science*. 178:411-14.]

凍結胚はゆっくりと融解する必要があります。

1. 融解するために、液体窒素からバイアルを取り出します。チューブラック等を用いて内容物が完全に溶けるまで室温で静置します (約 15~20 分かかります)。
2. 800ul の DPBS をピペットでゆっくりと各バイアルに添加し、内容物 (DMSO) を希釈します。
3. 1ml のピペッターを用いて、バイアル内の溶液の約半分を吸い上げます。バイアル内壁面に付着している可能性のある胚を全て回収するため、吸い上げた溶液でバイアル壁面全体を静かに洗い流します。その後、バイアル内のすべての溶液を吸い上げ、小さなペトリディッシュ内に移動します。
4. 1ml の DPBS 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。
5. 融解して回収した胚は、培養培地に移動し、できるだけ早急にレシーピエントへの胚移植作業を実施してください。