



配偶子や胚の処理、媒精からday5/6までの胚培養用一液式培地
day1からday5/6までディッシュ交換および培地交換無しで培養可能

【使用目的】

配偶子や胚の処理、媒精から day 5/6 までの胚培養。

【品質確認試験】

ロットごとに pH, Osmolality, Endotoxin, Mouse Embryo Test, Human Sperm Survival Assay (HSSA) 及び無菌性が試験される。

【緩衝能】

Sodium Bicarbonate (炭酸水素ナトリウム) の緩衝能を利用しており、CO₂ インキュベーター内での使用に適す。

【使用方法】

媒精や培養では適量のタンパク質サプリメントを添加する。

調製法事例

ヒト血清アルブミン溶液(タンパク濃度 100 mg/mL、カタログ番号 9988) を使用する場合は、5 mg/mL になるよう培地に添加する。
(9.5 mL の Continuous Single Culture(CSCM)に0.5 mL のHSAを添加する。)
DSS 代替血清(タンパク濃度 50 mg/mL、カタログ番号 9301) を使用する場合は、10% (v/v) になるよう培地に添加する。(9 mL の CSCM に 1 mL の DSS を添加する。)

平衡化

タンパク質サプリメントを添加したCSCMを使用前に37°Cに加熱、CO₂インキュベーター(濃度5-6%)で一晩、至適pH(7.26-7.35)になるよう平衡化する。

CSCM での培養事例**(媒精)**

採卵前日にオイルでカバーし、タンパク質サプリメントを添加済みの CSCM を供した採卵用ディッシュおよび媒精用ディッシュを作製し、5-6%CO₂インキュベーターで37°Cで一晩平衡化する。採卵後、直ちに卵子を、採卵用ディッシュに移し、IVFまたはICSIによる媒精前、CO₂インキュベーターで1~4時間、前培養する。

●C-IVF

- 1-3個卵子を含むマイクロドロップあたり、50,000-100,000/mL 精子を、無菌的に供する。
2. 正常受精のため 16-20時間、CO₂ インキュベーターで培養する。

●ICSI

1. 裸化後1時間以上経過(採卵後4時間以上経過していない)後、CO₂ インキュベーターから卵子を取り出し、各施設のプロトコールに従ってICSIを実施する。
2. ICSI後直ちに、事前に平衡化した媒精ディッシュの新しいドロップにICSIした1-3個の卵子を置く。正常受精のため16-20時間、CO₂ インキュベーターで培養する。

(胚培養)

媒精日(受精確認の前日)にオイルでカバーし、タンパク質サプリメントを添加した CSCM を供した胚培養用ディッシュを作製し、5-6% CO₂、37°Cで一晩平衡化する。

1. 継続培養する場合

正常受精(2前核および2極体)が確認された後、事前に準備した平衡化済みの CSCM に 2PN 接偶子 を移し、目的とする胚の発生段階(day 5/6)まで培地交換せずに継続培養する。

2. 培地交換する場合

受精が確認された胚を day 3 を超えて培養する場合は、48時間毎に培地交換する。

【保存温度】 2-8°C**【組成表】 p 47 参照****【有効期間】 製造後90日****※開封後の有効期限**

使用上の注意に従い、適正温度で保管すれば、開封後8週間まで使用可能である。

但し、その期限が、ラベル記載の有効期限より長い場合は、ラベル記載の有効期限までとする。

【使用上の注意】

培養液中に異物や濁りがみられた場合及び培養液が淡いオレンジ色でない場合には使用しないこと。

培養液の汚染を防ぐため無菌操作で取り扱い、余剰分は廃棄すること。

Gentamicin に対するアナフィラキシーを引き起こす可能性のある場合は使用しないこと。

注射用に使用しないこと。

凍結させたり39°C以上にしないこと。

【参考文献】

Biggers JD and Racowsky C ; The development of fertilized human ova to the blastocyst stage in KSOMAA medium: is a two-step protocol necessary? RBMOnline, 5: 133-140, 2002
Pool TB ; Recent advances in the production of viable human embryos in vitro. RBMOnline, 4: 294-302, 2002.
Biggers JD ; Thoughts on embryo culture conditions. RBMOnline, 4 (suppl.1): 30-38, 2001
Lane M, Hooper K and Gardner DK ; Effect of essential amino acids on mouse embryo viability and ammonium production. J Asst Reprod Genet, 18: 519-525, 2001
Biggers JD and McGinnis LK ; Evidence that glucose is not always an inhibitor of mouse preimplantation development in vitro. Hum Reprod, 16: 153-163, 2001
Devreker F, Van den Bergh M, Biramane J, Winston RML, Englert Y and Hardy K ; Effects of taurine on human embryo development in vitro. Hum Reprod, 14: 2350-2356, 1999
Devreker F, Van den Bergh M, Biramane J, Winston RML, Englert Y and Hardy K ; Effects of taurine on human embryo development in vitro. Hum Reprod, 14: 2350-2356, 1999

