

### 【使用目的】

2層法により精液から死滅精子細胞、白血球、破損した細胞等の混入の少ない画分に受精能の高い成熟生存精子を回収。

### 【構成】

6 mL × 12 本

Upper Layer (上層) : 50%溶液 6本

Lower Layer (下層) : 90%溶液 6本

50 mL × 2 本

Upper Layer (上層) : 50%溶液 1本

Lower Layer (下層) : 90%溶液 1本

### 【品質確認試験】

ロットごとにpH、Osmolality、Sperm Survival Assay、Rabbit Pyrogen Test(ウサギ発熱性試験)及び無菌性が試験される。

### 【使用方法】

1. 使用前に室温または37°Cに加温する。
2. 滅菌済みのピペットを用いて、1.5から2.0 mLのLower layerを滅菌済みのコニカルチューブに移す。
3. 未使用の滅菌済みピペットを用いてLower layerと同量のUpper layerを上記2のLower layerの上に静かに\* 重層する。  
\* Lower layerの液面近くの内壁にピペットをあて、コニカルチューブの円周に沿ってらせん状にピペットの先端を動かしながらUpper layerを注意深く重層する。Upper layerを完全に重層するまでこの操作を続ける。
4. 未使用のピペットを用いてUpper layerの上に1.5から2.0 mLの液化精液を静かに重層する。
5. 200から300 xgで10から20分間、遠心する。  
注：分離回収の効果を上げるために、処理する精子(精液)の品質や状態を評価し、遠心の回転数や時間を調整すること。
6. Upper layer および Lower layer を慎重にかつ完全に吸引除去して沈殿した精子層のみコニカルチューブに残すか、あるいは精子の層を直接吸引することにより回収して精子を未使用の滅菌済みのコニカルチューブに移す。
7. 未使用のピペットを用いて、2.0から3.0 mLの精子洗浄液\*\*を加えて精子を懸濁する。

\*\*Sperm Washing Medium (カタログ番号 9983) やタンパク質のサプリメントを添加した Modified HTF Medium(カタログ番号 90126)等



8. 200 xgで8から10分間、遠心する。
9. 上清を吸引除去する。
10. 上記7、8を繰り返す。
11. 上清を吸引除去し、目的に合わせて適量の培地を加え再懸濁する。

【保存温度】 2-8°C

【有効期間】 製造後2年

### 【使用上の注意】

異物の混在や溶液にコンタミネーションのような不均一な濁りがみられた場合には使用しないこと。

使用前に室温または37°Cに加温すること。

CO<sub>2</sub>インキュベーター内で使用する場合は、pHが変化しないように容器のフタを固く閉め、気相の交換が起きないようにすること。

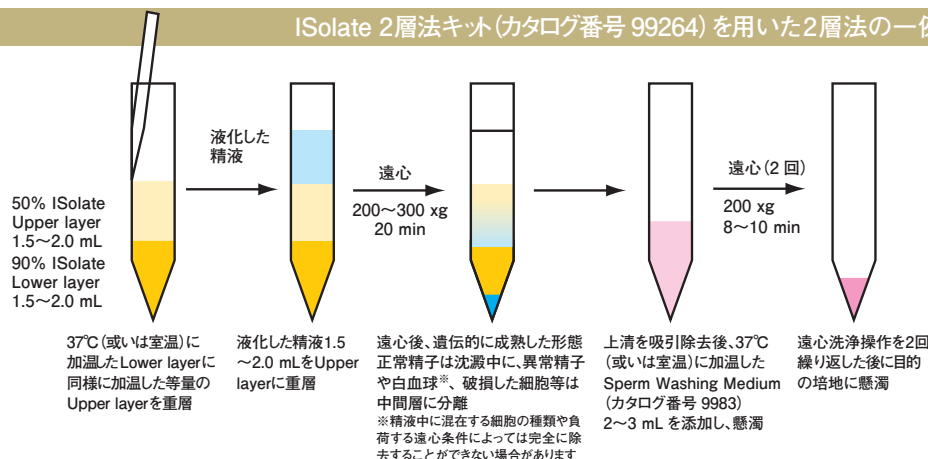
抗生物質、タンパク質のサプリメント、防腐剤は添加されていない。抗生物質を添加する場合は、アナフィラキシーを引き起こす可能性のあるものは使用しないこと。

凍結したり39°C以上にしなないこと。

### 【参照文献】

- Adaniya GK and Jackson KV ; Comparison of Percoll® and ISolate™ in the preparation of semen for use in assisted reproductive technologies. 53rd Annual Meeting of ASRM, Cincinnati, Ohio : O-113, 1997  
Tarchala SM, et al. ; ISolate™ as a new method of sperm separation. 53rd Annual Meeting of ASRM, Cincinnati, Ohio : P-116, 1997  
Miller KF, et al. ; Semen preparation for in-vitro fertilization using ISolate™ results in sperm recovery, fertilization and pregnancy outcomes that are indistinguishable from those obtained with Percoll®. 14 th Annual Meeting of ESHRE, Goteborg, Sweden : P-116, 1998  
Tarchala SM, et al. ; A comparison of sperm processing using ISolate™ and Pure Sperm. 14th Annual Meeting of ESHRE, Goteborg, Sweden : R-041, 1998

ISolate 2層法キット(カタログ番号 99264)を用いた2層法の一例<sup>1-5)</sup>



- 1) Makkar G. et al., Fertil. Steril., 1999, 72, 796-802
- 2) Sharma R. K. et al., Int. J. Fertil., 1999, 44, 163-167
- 3) Claassens O. E. et al., Hum. Reprod., 1998, 13, 3139-3143
- 4) Perez S. M. et al., J. Assist. Reprod. Genet., 1997, 14, 388-393
- 5) 製品に添付されるインサートシート