

4. 体外発生培養

1. 発生培地: CR1aa + 0.25 mg/mL リノール酸アルブミン (LAA) + 5%NCS を準備する。
2. 発生培地中で卵丘細胞と精子をピペッティングにより完全に剥離除去し、卵子を洗浄する。
3. 洗浄後の卵子を、オイルカバーした発生培地のドロップ (1 卵子=5 μ L; 最低 20 μ L) に移し、38.5°C、5%CO₂、5%O₂、90% N₂、湿度飽和下で媒精日を 0 日として、7-9 日間培養する。
4. 媒精開始後 48 時間目に卵割検査を実施する。
5. 発生した胚盤胞を移植または凍結保存に用いる (図 7)。

(解説)

- ① CR1aa に LAA を添加することで、発生した体外受精胚の耐凍性が向上する。
- ② ピペットが卵子直径より小さいと卵細胞質にダメージを与え、発生率が低下する。そのため、卵子の直径より大きめのピペットで卵子をこすり合わせながら卵丘細胞を剥離する。
- ③ 卵丘細胞を完全に剥離除去することで、過大子発生の確率が減少する。
- ④ 媒精開始後 27 時間で 2 細胞期に達し、55 時間で 6 細胞以上に発生している体外胚は受胎率が高いという報告がある。
- ⑤ 凍結保存後の生存性は拡張胚盤胞、胚盤胞、桑実胚の順に高い。

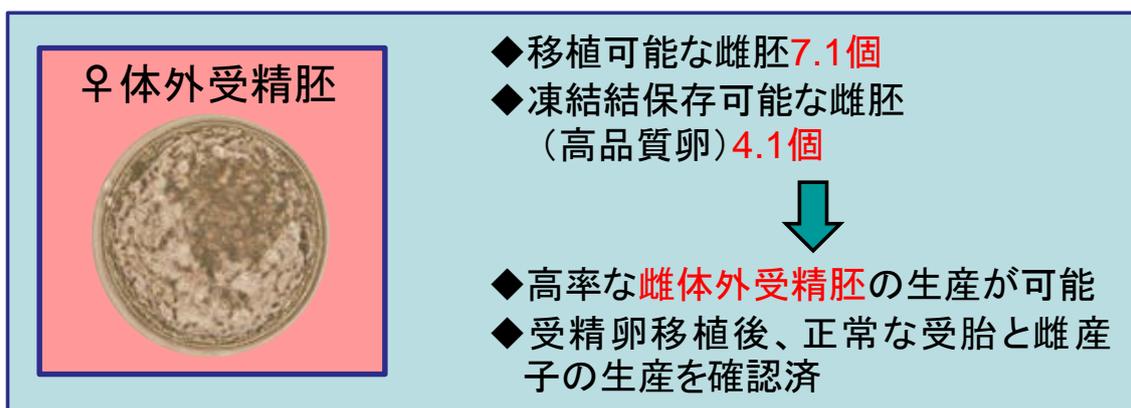


図 7. 性判別された体外受精胚の生産とその効率